UC-NRLF

$B 780 667

1868

THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA
DAVIS

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. 51. Band.

Originale.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
# und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer
in Breslau

und

Geh. Reg.-Rat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. 51. Band.
Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.
Originale.

Mit 8 Tafeln und 82 Abbildungen im Texte.

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1909.

UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 51. Heft 1.

Nachdruck verboten.

Untersuchung einer achtjährigen Bouillonkultur des Zieseltyphusbacillus (B. typhi spermophilorum)[1].

[Aus dem landwirtsch.-bakteriol. Laboratorium des Ackerbauministeriums zu St. Petersburg (Direktor M. G. Tartakowsky).]

Von **S. S. Mereshkowsky.**

Die Kultur, an der ich die unten beschriebenen Beobachtungen gemacht habe, ist von mir vor 8 Jahren folgendermaßen angestellt worden: Ca. 12 l schwach alkalischer Bouillon wurden in eine Flasche von 15 l gegossen, zeitweilig statt mit einem geschliffenen mit einem Wattepfropfen verschlossen und im Dampfkessel sterilisiert. Nach dem Erkalten der Bouillon wurde zu ihr der Inhalt eines Reagensglases mit eintägiger Bouillonkultur des Zieseltyphusbacillus, die sich bei 37,5° C entwickelt hatte und normale Virulenz besaß, zugegossen[2]). Die Entwickelung der Kultur in der Flasche ging 24 Stunden im Brutschrank, dann 3 Tage bei Zimmertemperatur vor sich. Nach 24-stündigem Stehen bei 37,5° C trübte sich die Bouillon in der Flasche, und auf der Oberfläche derselben hatte sich ein Häutchen entwickelt, das bei geringer Erschütterung in Stücke riß und zu Boden sank. Beim Stehen bei Zimmertemperatur nahm die Trübung der Bouillon zu; auf der Oberfläche derselben bildete sich ein neues Häutchen, am Boden der Flasche sammelte sich ein lockerer Bodensatz an.

Am Schlusse des 4. Tages der Entwickelung der Kultur wurde der Wattepfropfen durch einen sterilisierten Glaspfropfen ersetzt; dieser mit mehreren Lagen in Sublimatlösung 2:1000 getränkten Pergamentpapiers umbunden und durch einen Bindfaden dicht an den Flaschenhals angezogen. Die derart verschlossene Kultur wurde in einem dunklen Raum bei Zimmertemperatur stehen gelassen.

Nach 8 Jahren ergab ihre Besichtigung, daß sie aus einer vollkommen klaren, blaßgelben Flüssigkeit ohne irgendwelche Reste des Häutchens und aus einer dünnen Schicht eines dunkelgrauen, fast schwarzen Bodensatzes bestand. Beim Oeffnen der Flasche war kein Unterschied im Drucke der darin enthaltenen Gase im Vergleich zu der umgebenden Atmosphäre zu bemerken; der Geruch erinnerte an Schwefelwasserstoff. Die Flüssigkeit zeigte schwach alkalische Reaktion.

Da die Bakterien sich nur im Bodensatz befinden konnten, so wurden Proben der Kultur zur Untersuchung mittels langer Pipetten vom Boden der Flasche genommen. Eine Probe wurde zwecks sofortiger Untersuchung in ein durch einen Wattepfropfen verschlossenes Reagensglas gebracht, die übrigen in denselben Pipetten, mit denen sie der Flasche entnommen waren, zugeschmolzen und bei Zimmertemperatur in der Dunkelheit belassen.

---

[1] Dieser Bacillus ist von mir im Jahre 1893 aus Zieselmäusen ausgeschieden worden. 1895 beschrieb ich (Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. Bd. XVII. 1895. p. 742) kurz seine Wachstumseigenschaften auf den gewöhnlichen Nährböden und hatte vor, ihn gleichzeitig mit dem Loefflerschen B. typhi murium, dem er, wie mir schien, sehr nahe steht, zu vergleichen, und mit einem passenden Namen zu bezeichnen. 1897 ist er von B. Issatschenko (Script. botan. hort. univers. imper. Petropolit. Fasc. 15. 1897) als B. spermophilinus bezeichnet worden. Da dieser aber nach I.s durchaus nicht überzeugenden Beobachtungen Sporen bildet, und da die angeführte Bezeichnung keinen Hinweis auf seine Zugehörigkeit zur Coli-Gruppe erkennen läßt, so wäre es meines Erachtens zweckmäßig, ihn als B. typhi spermophilorum zu bezeichnen.

[2] In Verfütterungsversuchen an Mäuse tötete sie Hausmäuse (Mus musculus) nach 7—12, Wühlmäuse (Arvicola arvalis) spätestens nach 9 Tagen.

Die Untersuchung der alten Kultur ergab folgende Resultate:

1) Bestimmung ihrer Lebensfähigkeit durch Aussaat in frische Bouillon. In mehrere, mit Bouillon gefüllte Reagensgläser wurde je eine Platinöse alter Kultur gebracht. Nach 24-stündigem Stehen im Brutschrank war in allen Reagensgläsern das für den B. typhi spermophilorum charakteristische Wachstum zu beobachten: Die Bouillon wurde trübe und auf ihrer Oberfläche bildete sich ein Häutchen, das bei geringfügiger Erschütterung ganz oder in Stücken zu Boden sank.

2) Quantitative Bestimmung der lebensfähigen Bacillen in einem gewissen Volumen der alten Kultur mittelst Plattenkulturen und gleichzeitiger Prüfung der Reinheit der Kultur. In den Plattenkulturen auf Gelatine, die aus einer Platinöse der alten Kultur angestellt waren, entwickelten sich 6100 Kolonieen, die sämtlich denselben Typus aufwiesen und den Kolonieen des Zieseltyphusbacillus vollkommen ähnlich waren. Mehrere Kolonieen wurden auf Bouillon übertragen; nach 24-stündigem Verweilen im Brutschranke wiesen die Impfungen dasselbe Wachstum auf, das für den Zieseltyphusbacillus vollkommen charakteristisch ist (Trübung der Bouillon, zu Boden sinkendes Häutchen).

3) Entscheidung der Frage über das Vorkommen von Sporen des Zieseltyphusbacillus in der alten Kultur.

I. Mittelst Erwärmung.

Mehrere dünnwandige, an beiden Enden zugeschmolzene Kapillarröhrchen, die mit der alten Kultur gefüllt waren, wurden in erwärmtes Wasser untergetaucht:

a) bis auf 100° C auf 5 Sekunden,
b) „ „ 70° C „ 10 Minuten,
c) „ „ 67° C „ 30 „

Sofort nach der Erwärmung wurde die Kultur aus den Kapillarröhrchen in Reagensgläser mit Bouillon gebracht. In keinem derselben waren selbst nach 5-tägiger Aufbewahrung im Brutschrank Spuren von Entwickelung zu bemerken ¹).

II. Durch Austrocknen.

Das Austrocknen der alten Kultur wurde auf Deckgläsern vollzogen, die auf das Netz des Exsikkators gelegt waren; auf jedes Deckglas wurde ein Tropfen einer Emulsion gebracht, die durch das Durchschütteln von 10 Tropfen der alten Kultur mit 13 ccm physiologischer NaCl-Lösung hergestellt war. Diese Verdünnung wurde gewählt, um beim Austrocknen eine schädigende Wirkung des Substrats auf die Bakterien zu vermeiden. Um annähernd die Menge der lebensfähigen Elemente zu bestimmen, die unter diesen Bedingungen auf jedes Deckglas kamen, wurde in mehrere Reagensgläser mit verflüssigter Gelatine je ein Tropfen

---

1) Daß die Kulturen in den Kapillarröhrchen bis zur Erwärmung lebensfähig waren, wird durch die Plattenkulturen von § 2 bewiesen, da die letzteren aus derselben Portion der alten Kultur angestellt wurden, aus der das Material zur Füllung der Kapillarröhrchen entnommen wurde.

derselben Emulsion gegeben, geschüttelt und die Gelatine dann abgekühlt.

Die Verteilung der Tropfen auf die Deckgläser wurde gegen 4 Uhr nachmittags beendet; bis um 7 Uhr abends war gar keine Veränderung der Größe der Tropfen infolge Verdunstung zu bemerken. Darauf wurde die Beobachtung des Prozesses des Austrocknens bis um 10 Uhr morgens des nächsten Tages unterbrochen; da die Gläser sich bereits als vollkommen trocken erwiesen, wurde ein Teil derselben sogleich in Reagensgläser mit Bouillon gebracht, ein anderer Teil am Abend desselben Tages, die übrigen im Laufe der folgenden Tage. In keinem der Reagensgläser, in welchen Deckgläschen eingetaucht waren, war auch nur eine Spur von Entwickelung zu beobachten, während sich in den als Kontrolle dienenden Reagensgläsern mit Gelatine, die mit je einem Tropfen derselben Emulsion geimpft waren, im Mittel je 70 Kolonieen entwickelt hatten.

4) Mikroskopische Untersuchung der alten Kultur[1]).

I. Ohne Färbung.

a) Sofort nach Uebertragung der Kultur aus der Flasche ins Reagensglas. In den zur mikroskopischen Untersuchung genommenen Tropfen der Kultur wurde eine große Menge körnigen Zerfalls gefunden, ferner viele das Licht schwach brechende Stäbchen (Hüllen) und nur wenige mit normaler Lichtbrechung, die aber unbeweglich waren; außerdem kamen in den Präparaten kristallinische Gebilde vor, die wie Wedel aus langen dünnen Federn aussahen.

b) Am 2. Tage des Befindens des Reagensglases mit der Kultur bei Zimmertemperatur. Die Menge der stark lichtbrechenden Stäbchen hatte zugenommen, in einem Präparate wurde ein sich bewegendes Stäbchen gefunden.

c) Am 30. Tage des Befindens des Reagensglases mit der Kultur bei Zimmertemperatur. Die mikroskopische Untersuchung der Kultur wies eine ganz unerwartete Erscheinung auf. Der in großer Menge darin enthaltene körnige Zerfall und die Stäbchen schwanden rasch, indem sie sich gleichsam in der umgebenden Flüssigkeit lösten. Diese Auflösung war auch makroskopisch in Kapillarröhren zu beobachten: Die in sie gebrachte, anfangs trübe erscheinende Kultur hellte sich rasch auf und wurde in einigen Minuten vollkommen klar. Der Prozeß der Auflösung des körnigen Zerfalls und der Stäbchen hatte nur in den Portionen der alten Kultur statt, die mit einer großen Sauerstoffmenge in Berührung kamen; in ihnen war gleichzeitig ein Absterben der Kultur zu beobachten, während bei beschränktem Sauerstoffzutritt (in zugeschmolzenen Pipetten) weder der Auflösungsprozeß, noch selbst während 9-monatiger Aufbewahrung ein Absterben der Kultur stattfand.

II. Nach vorhergehender Färbung.

Die Untersuchung von gefärbten Präparaten, die sofort nach der Uebertragung der Kultur aus der Flasche ins Reagensglas angefertigt waren, zeigte, daß sich die Stäbchen sehr schlecht färben ließen. Bei einigen war die Färbung gleichmäßig auf den ganzen Zellinhalt verbreitet, bei anderen waren nur Körnchen gefärbt, einige blieben völlig farblos (Hüllen).

---

1) Ausgeführt mit Zeiss' Komp.-Okul. 12, Immers. Obj. $^1/_{12}$.

Weder in den gefärbten, noch in den ungefärbten Präparaten konnten Sporen gefunden werden.

III. In feuchten Kammern.

Um diejenigen Elemente zu bestimmen, aus denen die Regeneration der Kultur erfolgen würde, wurden unter dem Mikroskop in 4 feuchten Kammern mit Gelatine oder Agar verdünnte Tropfen der alten Kultur von solchen Stellen, in denen die Stäbchen das besterhaltene Aussehen hatten, fixiert.

In jeder Kammer entwickelten sich 4—5 Kolonieen, leider aber in allen Fällen außerhalb des Gesichtsfeldes.

5) Prüfung der alten Kultur auf ihre Virulenz in bezug auf graue Hausmäuse (Mus musculus) und Zieselmäuse (Spermophilus guttatus).

Diese Versuche wurden 3 Stunden nach Uebertragung der alten Kultur aus der Flasche in das Reagensglas angestellt.

I. Versuche an grauen Mäusen.

a) Zwei grauen Mäusen No. 1 und No. 2 wurde in die Bauchhöhle je 1 ccm der alten Kultur injiziert. Nach 36 Stunden gingen beide Mäuse zugrunde.

Die Obduktion ergab hauptsächlich eine Veränderung des Dünndarms, dessen Wände schlaff und der Inhalt mit Blut gemischt war. Außerdem wurden an der Oberfläche des Darms, der Leber und der Milz punktförmige Körnchen gefunden, die in den umgebenden Geweben keinerlei Entzündungserscheinungen hervorriefen und sich von ihnen leicht loslösen ließen. Die mikroskopische Untersuchung zeigte, daß diese Körnchen Zusammenballungen des Bodensatzes der injizierten Kultur vorstellten.

Die Untersuchung von Ausstrichpräparaten des Herzblutes, der Leber und der Milz dieser Mäuse zeigte überall die Gegenwart von Stäbchen.

In Plattenkulturen aus denselben Organen entwickelten sich Kolonieen ein und desselben Typus, die den Kolonieen des Zieseltyphusbacillus vollkommen ähnlich waren. In Bouillon abgeimpft, zeigten sie ein für den Zieseltyphusbacillus vollkommen charakteristisches Wachstum (Trübung der Bouillon und ein ganz oder in Stücken zu Boden sinkendes Häutchen).

b) Zwei grauen Mäusen No. 3 und No. 4 wurde je 1 ccm der alten Kultur subkutan eingespritzt.

Der Tod der Maus No. 3 trat am 6., der von No. 4 am 12. Tage nach der Injektion ein.

Bei der Obduktion erwies sich in beiden Fällen die Wand des Dünndarms welk, sein Inhalt blutig. Außerdem wurde bei der Maus No. 4 an der Stelle des Einstiches unter der Haut eine geringfügige Ansammlung von ziemlich zähem Eiter gefunden.

Die bakteriologische Untersuchung dieser Mäuse führte zu denselben Resultaten wie in den Fällen No. 1 und No. 2.

c) Vier grauen Mäusen, No. 5, No. 6, No. 7 und No. 8, wurden je 1,5 ccm der alten Kultur mit der Nahrung verfüttert.

Die Maus No. 5 starb am 11., No. 6 am 14., No. 7 am 26., No. 8 am 30. Tage nach der Infektion.

Bei der Obduktion dieser Mäuse wurden pathologische Veränderungen nur bei der Maus No. 5 konstatiert. Die Wand des Dünndarms

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

erwies sich bei ihr als welk, sein Inhalt blutig, die Milz von 1,5 cm Länge und 0,5 cm Breite.

Auch die bakteriologische Untersuchung der Organe führte nur bei der Maus No. 5 zu positiven Ergebnissen. Aussaaten, die aus ihrem Herzblut, Leber und Milz gemacht waren, zeigten eine Reinkultur des Zieseltyphusbacillus.

II. Versuche an Zieselmäusen.

a) Zwei Zieselmäusen No. 1 und No. 2 wurden je 2 ccm der alten Kultur peritoneal injiziert.

Die Zieselmaus No. 1 starb zu Beginn des 3., die Zieselmaus No. 2 zu Beginn des 4. Tages.

In beiden Fällen wurden bei der Obduktion, wie bei den Mäusen, an der Oberfläche des Darms, der Leber, der Milz und der Nieren viele schwarze Körnchen gefunden, die sich von den umgebenden Geweben leicht loslösen ließen und in ihnen keinerlei Entzündungsprozesse auslösten. Wie die mikroskopische Untersuchung zeigte, stellten sie ein Sediment der injizierten Kultur vor. Bei beiden Zieselmäusen war die Dünndarmwand welk, sein Inhalt blutig. Leber und Milz waren vergrößert.

In Aussaaten aus der Leber, Milz und dem Herzblut dieser Zieselmäuse entwickelte sich eine Reinkultur des Zieseltyphusbacillus.

b) Zwei Zieselmäusen No. 3 und No. 4 wurden je 2 ccm der alten Kultur subkutan eingespritzt.

Die Zieselmaus No. 3 starb am 8., No. 8 am 17. Tage. Bei der Obduktion der Zieselmaus No. 3 wurde an der Stelle des Einstichs eine unbedeutende Hyperämie gefunden; die Milz war 4 cm lang und 1 cm breit; an den übrigen Organen waren keine Veränderungen zu vermerken. Bei der Zieselmaus No. 4 wurde an der Stelle des Einstiches eine Ansammlung von ziemlich zähem Eiter gefunden. Der Dünndarm war welk, mit blutig gefärbtem Inhalt.

Die mikroskopische Untersuchung des Eiters von der Stelle des Einstichs zeigte nach Färbung eine Menge gut gefärbter Stäbchen; Kokken wurden nicht gefunden.

In Aussaaten aus den Organen der beiden Zieselmäuse entwickelten sich überall Reinkulturen des Zieseltyphusbacillus.

c) Den Zieselmäusen No. 5 und 6 wurden je 2 ccm der alten Kultur mit der Nahrung verfüttert.

Sie blieben vollkommen gesund.

Schlußfolgerung.

Aus dem Vorangehenden ist zu ersehen, daß:

1) Der Zieseltyphusbacillus in einer Bouillonkultur ohne freien Sauerstoffzutritt seine Lebensfähigkeit mindestens 8 Jahre lang bewahren kann.

2) Wie aus der mikroskopischen Untersuchung der alten Kultur, aus ihrem Verhalten beim Erhitzen und beim Austrocknen ersichtlich ist, bildet dieser Bacillus, wenigstens unter den in der Flasche vorhanden gewesenen Bedingungen, keine Sporen.

3) In einer Bouillonkultur dieses Bacillus, die des freien Zutritts von Sauerstoff entbehrt, werden mit der Zeit Stoffe angesammelt, die in Berührung mit der Luft eine stark bakteriolytische (autolytische) Wirkung haben.

4) **Die Virulenz der 8-jährigen Bouillonkultur des Zieseltyphusbacillus erweist sich für Haus- und Zieselmäuse bei einer Infektion per os als stark herabgesetzt, dagegen ist sie bei subkutaner oder peritonealer Injektion für diese Tiere wenig verändert.**

Durch Passagen ließ sich die Virulenz des Bacillus für graue Hausmäuse rasch in der ursprünglichen Stärke wiederherstellen.

Nachdruck verboten.

Ueber das Ratin II.

[Aus dem landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium des Ackerbauministeriums in St. Petersburg (Direktor M. G. Tartakowsky).]

Von **S. S. Mereshkowsky** und **E. Sarin.**

Die Einführung bakteriologischer Methoden zur Bekämpfung schädlicher Nagetiere von seiten der zustehenden Regierungsämter stieß noch vor nicht langer Zeit bei den Landwirten auf erhebliche Schwierigkeiten. Heutzutage jedoch findet die genannte Methode eine recht weite Verbreitung. Die Nachfrage nach den betreffenden Kulturen wird von einer größeren Anzahl Privatlaboratorien befriedigt, die meistens ihren Präparaten eine besondere Benennung beizulegen suchen. Nach den Benennungen zu urteilen, müßte es eine Unmenge von Bakterienarten geben, deren Kulturen als das sicherste Mittel zur Bekämpfung der Nager dienen kann. Ungeachtet dessen gibt es bis jetzt bloß 5 Bakterienarten, von denen 2, höchstens 3 Arten hierzu eine häufigere Anwendung finden. Da die genannten Kulturen, von Privatlaboratorien angefertigt, keiner Regierungskontrolle unterliegen, so steigen unwillkürlicherweise Zweifel auf, ob sie alle auch wirklich Bakterienkulturen sind, und ob es unter ihnen nicht Präparate gibt, die nicht nur die Schädlinge vernichten, sondern auch auf Haustiere, ja auch auf Menschen einwirken können.

Um dieser Frage näherzutreten, befaßte sich einer von uns (Mereshkowsky), nach längerer Unterbrechung wieder in den Bestand des landwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratoriums des Ackerbauministeriums eintretend, mit der Untersuchung einiger von diesen Kulturen. Unter anderem wurde das Mittel Ratin II untersucht, welches als eine Bakterienkultur in den Handel gebracht wird, und für die Vertilgung der Ratten dienen soll. Bald aber erwies es sich, daß die Untersuchung dieser „Kultur“ nicht einem Bakteriologen, sondern einem Chemiker zusteht. Es mußte daher zur Vervollständigung der bakteriologischen eine chemische Untersuchung eingeleitet werden; diese letztere wurde von E. Sarin ausgeführt.

Ratin II wird von einem Privatlaboratorium in Kopenhagen (unter der Firma „Bakteriologisches Laboratorium Ratin“) dargestellt. Das zur Untersuchung von uns benutzte Material wurde nach Bedarf vom Vertreter der genannten Firma in St. Petersburg bezogen. Das Präparat stellt eine dicke, breiartige Masse aus Weißbrot, durchtränkt von einer rötlichen Flüssigkeit von deutlich saurer Reaktion, dar.

Auf den Blechdosen aufgeklebte Etiketten, wie auch denselben beigefügte Beschreibungen enthalten folgendes: „Ratin II ist eine Bakterienkultur, die unter den Ratten eine ansteckende und tötende Krankheit hervorruft. Ratten sterben im Laufe von 2—8 Tagen . . .“ „Der Unterschied zwischen Ratin I und Ratin II besteht in der verschiedenen Wachstumsfähigkeit der Bacillen, wie deren Einwirkung auf Ratten, was durch verschiedenartige Kultivierung bedingt wird . . . Ratin I wirkt nicht nur direkt durch Verfütterung, sondern auch durch Uebertragung der Infektion an andere Ratten. Ratin II besitzt eine sehr geringe Infektionsfähigkeit, wirkt aber auf die gefütterten Ratten stärker und schneller, sie sicher tötend.“

Verfütterungsversuche, die von uns mit diesem Präparat an grauen Ratten (Mus decumanus) angestellt wurden, führten zu folgenden Resultaten: Das Eintreten der Krankheitserscheinungen, deren Stärke und Ausgang standen in direktem Verhältnis zum verzehrten Quantum des Ratins. Bei Ratten, die größere Mengen des Mittels mit einem Male gefressen hatten, traten die Krankheitserscheinungen nach einigen Minuten ein, stiegen schnell und endeten nach 8—12 Stunden mit dem Tode des Tieres. Bei denjenigen, die etwas weniger gefressen hatten, traten die Krankheitserscheinungen nach 2—3 Stunden ein, der Tod nach 1—2 Tagen. Endlich bei den Tieren, welche das Präparat nur angekaut hatten, traten die Krankheitssymptome noch später ein, erreichten ihr Maximum in 2—3 Tagen und endeten mit vollkommener Genesung in kürzester Zeit.

Im allgemeinen läßt sich bei den Ratten, die Ratin gefressen haben, folgendes Krankheitsbild aufstellen: Sie bekommen ein trauriges, verdrießliches Aussehen, verkriechen sich in einen Winkel des Käfigs, kauern sich hier zusammen und reagieren wenig auf äußere Eindrücke. Wenn sie in diesem Stadium gereizt werden, so verändern sie nur ungern in taumelndem Gange, wie betrunken, ihren Platz. Allmählich verschlimmert sich ihr Zustand: Im erstgenannten Stadium durch starken Stoß aufgeschreckt, können sie noch rasch, mit allen Vieren sich anklammernd, am Gitter des Käfigs hinaufkriechen, jetzt aber versagen bei ihnen merklich die beiden hinteren Extremitäten und bleiben bei der Bewegung zurück. Bald darauf sind die Ratten nicht mehr imstande, das Gitter des Käfigs zu erklimmen; es fällt ihnen sogar auch auf dem Boden die Bewegung schwer, indem sie die hinteren Füße nachschleppen, als wären sie paralysiert, die Pfoten mit der Sohle nach oben gerichtet. Nach kurzer Zeit verlieren sie endlich die Fähigkeit, in hockender Stellung zu beharren; sie liegen mit ausgespreizten Hinterfüßen, wie auf dem Präpariertische ausgestreckt. Die hintere Hälfte des Körpers liegt wie gelähmt auf dem Bauche, die vordere aber auf der Seite. Mit den Vorderfüßen machen sie ununterbrochene, unzweckmäßige Bewegungen, als ob sie etwas von sich stoßen wollten. Die Augen sind geschlossen, am Munde erscheint Schaum, zuweilen mit Blut gefärbt. Werden sie in diesem Krankheitsstadium starken Reizen ausgesetzt, so reagieren sie schnell, versuchen sich aufzurichten, zu welchem Zwecke sie Anstrengungen machen, die hinteren Extremitäten in ihre normale Lage zurückzuführen. Da aber diese Bewegungen keine koordonierten sind und die hinteren Füße nicht gehorchen, so schaukelt der Rumpf wie bei Betrunkenen. Um das Gleichgewicht zu behalten, gebrauchen sie ihren Schwanz, den sie gleich einem Stocke gerade nach oben richten und dann mit ihm bald nach rechts, bald nach links schlagen.

Genau dasselbe Krankheitsbild läßt sich nach dem Gebrauch des Ratins auch bei grauen Hausmäusen (Mus musculus) beobachten.

Die Obduktion infolge von Ratin II gefallener Tiere ergab keine ständigen pathologischen Veränderungen. Zuweilen wurde entweder Hyperämie der Eingeweide, oder eine Herzerweiterung, oder auch Blutgerinnsel im Herzen in wenig kompakter Form gefunden. In den meisten Fällen behielten aber die Organe ihr normales Aussehen. Der Harn (wenn in der Harnblase vorhanden) wies keine merklichen Veränderungen auf.

Bei der bakteriologischen Untersuchung der Leichen, zu welchem Zwecke Aussaaten aus dem Herzblut, der Leber und der Milz in Reagensgläschen mit Bouillon gemacht wurden, ergaben sich keine positiven Resultate.

Im Ratin [1]) variierte die Anzahl der Mikroorganismen in weiten Grenzen. Zuweilen erwies sich das Präparat vollkommen steril. So wurde z. B. bei der Untersuchung einer Dose die Bouillon in zwei Reagensgläschen mit je 1 g Ratin II beschickt. Außerdem wurde noch eine ganze Reihe von Strichkulturen auf schrägem Agar und Plattenkulturen angestellt; die Resultate waren negativ. Bei Untersuchung des Inhalts der zweiten Dose nach derselben Methode, in einem von den zwei beschickten Reagensgläschen mit Bouillon, wie auch in allen Gläschen mit dem schrägen Agar wurde nach mehrtägigem Stehen im Brutschrank gar keine Entwickelung beobachtet. Im zweiten Reagensgläschen mit Bouillon erschien aber am zweiten Tage eine kaum merkliche Trübung; es hatte sich hier, wie die mikroskopische Untersuchung und angestellte Plattenkulturen erwiesen, eine Kokkenart entwickelt. In den übrigen Dosen mit Ratin wurde die Gegenwart einer größeren oder geringeren Menge, aber jedesmal verschiedener Art von Bakterien konstatiert; in einer Dose fanden sich sogar außer den Bakterien noch mehrere Mycelgruppen eines Schimmelpilzes vor, wie auf der Oberfläche der Breies (Ratins), so auch im Innern seiner Masse.

Von den obenerwähnten bei der Untersuchung des Ratins erhaltenen Resultaten verdienen folgende besonders hervorgehoben zu werden:

1) Die Mannigfaltigkeit der im Ratin vorkommenden Mikroorganismen, zuweilen aber auch die vollständige Abwesenheit derselben.

2) Die starke Wirkung des Mittels, welche ungeachtet der eventuellen Abwesenheit von Bakterien mit Blitzschnelle das Auftreten der Krankheitserscheinungen hervorruft, die sich stürmisch weiterentwickeln und entweder schnell mit dem Tode des Tieres endigen, oder ebenso rasch zu vollständiger Genesung führen.

Diese Tatsachen gestatten nicht, das Ratin als die Kultur einer spezifischen Bakterie anzusehen; sie werden aber vollkommen begreiflich, wenn man annimmt, daß dieses Mittel eine Giftmischung repräsentiert. Zur Bestätigung der Richtigkeit dieser Voraussetzung wurden folgende Versuche angestellt:

1) Eine Portion Ratin wurde bei 60° C 2 Stunden lang erhitzt;

2) eine zweite bei 100° C 1 Stunde (im strömenden Dampf);

---

[1]) Die bakteriologische Untersuchung des Ratins (untersucht wurden 8 Blechdosen, erhalten zu verschiedenen Zeiten) wurde niemals später, als am nächsten Tage nach Einkauf desselben von dem St. Petersburger Vertreter der Firma ausgeführt. Bis zur Anstellung der Versuche wurde dasselbe an einem kühlen Orte aufbewahrt. Die Firma erklärt, daß das Präparat 2—3 Monate lang seine Wirksamkeit behält. In unsere Hände gelangte es, nach der auf den Etiketten ausgestellten Anfertigungszeit zu urteilen, $1^1/_2$—2 Monate vor Ablauf obengenannter Frist.

3) eine dritte bei 120° C 5 Minuten (im Dampfkessel);

4) eine vierte wurde verascht.

Um zu ermitteln, ob nach diesem Erhitzen im Ratin noch eventuell lebensfähige Mikroorganismen vorhanden sind, wurden von den ersten zwei Proben Aussaaten in Bouillon gemacht zu je 1 g Ratin pro Reagensgläschen. Die Bouillon blieb in allen beschickten Reagensgläschen steril. Außerdem wurde von allen 4 Proben ein gewisses Quantum den Ratten verfüttert. Bei den Ratten, welche von einer der ersten drei Proben gefressen hatten, traten alle früher beschriebenen charakteristischen Krankheitserscheinungen auf, welche mit dem Tode der Tiere endeten. Bei Ratten dagegen, welche die Asche gefressen hatten (im Teig aus Roggenmehl), konnte keine Veränderung ihres normalen Gesundheitszustandes konstatiert werden.

Hieraus ist deutlich zu ersehen, daß die Wirkung des Ratin II nicht durch die Gegenwart der Mikroorganismen, sondern durch die eines Giftes bedingt wird.

Um die Natur des Giftes zu ermitteln, wurde zur chemischen Untersuchung geschritten. Einigen chemischen Reagentien gegenüber wies das Präparat folgende Eigentümlichkeiten auf:

Beim Zusammenbringen einer alkalischen Kupfersulfatlösung mit den Teilen des Brotbreies, welche mit der rötlichen Flüssigkeit am stärksten durchtränkt waren, wurde die genannte Lösung bei Zimmertemperatur sehr bald reduziert, indem sich rotes Kupferoxydul ausschied.

Nach Bearbeitung des Breies mit Wasser wurde beim Erhitzen eine schmutzig milchige Mischung erhalten, deren Filtrat, mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, sich beim weiteren Erhitzen rötlich färbte.

Bei Behandlung des Ratins mit schwefelsäurehaltigem Alkohol wird ebenfalls eine rötliche Flüssigkeit erhalten, die beim Eindampfen allmählich dunkler wird und einen braunroten Rückstand zurückläßt; an den Rändern der Porzellanschale bemerkt man hierbei eine bläuliche Färbung.

Die Asche des betreffenden Mittels weist dieselben Bestandteile, wie gewöhnliche Pflanzenasche auf. Proben auf metallische Gifte, wie Arsen, Antimon und Quecksilber, ergaben negative Resultate. Die Anwesenheit von Toxalbuminen — Ricin, Abrin — konnte auch nicht ermittelt werden. Die Untersuchung auf Alkaloide und Glukoside wurde nach der Methode von Stass-Otto ausgeführt. Nach der üblichen mehrmaligen Bearbeitung des Materials mit Alkohol und Wasser wurde zuletzt ein hellgelbes, leicht trübes, wässeriges Filtrat von schwach sauerer Reaktion erhalten.

Um die physiologische Wirkung dieses Filtrats auf Ratten zu erproben, wurde dasselbe mit Brot verfüttert. Bald, nachdem die Ratten es gefressen, traten dieselben Krankheitssymptome, wie nach Ratin ein und endeten mit dem Tode der Tiere. Es unterlag keinem Zweifel, daß das obige Filtrat ein den Ratten todbringendes Gift enthielt. Um der Natur des Giftes näherzutreten, wurde das Filtrat mit Gruppenreagentien auf Alkaloide geprüft, wobei eine Trübung beobachtet wurde.

Der ätherische Auszug des sauren, sowie des nachher alkalisch gemachten Filtrates hinterließ nach dem Verdunsten des Aethers auf dem Uhrgläschen einen harzigen, gelben Rückstand von bitterem Geschmack, welcher folgende Reaktionen gab: Mit konzentrierter Schwefelsäure färbte es sich zuerst gelb, dann bald darauf braun, zuletzt braunrot; mit Salzsäure gab es hellgelbe Färbung, mit Salpetersäure eine gelbe.

Beim Erwärmen des Rückstandes mit Salpetersäure schieden sich grünliche Flocken aus. Da mit anderen Reagentien ebenso keine charakteristischen Farbenreaktionen erhalten werden konnten, war auf chemischem Wege die Ermittelung des Giftes ausgeschlossen. Infolgedessen wurden vergleichende physiologische Versuche angestellt, um auf die Spur zu kommen, welches der Alkaloide oder Glykoside dem Ratin in der Wirkung gleichkäme. Verschiedene Alkaloide, an Ratten verfüttert, riefen zwar Krankheitserscheinungen hervor, aber sie unterschieden sich erheblich von denen des Ratins.

Da in der Literatur die tödliche Wirkung der Meerzwiebel auf Ratten mehrfach erwähnt wird, so stellten wir auch mit dieser einige Versuche an. Hierzu wurde die gewöhnlich im Handel vorhandene weiße Meerzwiebel (Scilla maritima cum bulbo albo) benutzt, und zwar in Form eines wässerigen Auszuges. Es wurden hierbei überhaupt keine Krankheitssymptome beobachtet. Ganz anders verhielt sich der wässerige Auszug von frischen Zwiebeln der roten Abart (Scilla maritima cum bulbo rubro). Bei den mit letzteren Auszügen ausgeführten Versuchen traten genau dieselben Krankheitssymptome auf, wie beim Ratin und endeten jedesmal mit dem Tode der Tiere. Ebenso gab der Auszug aus der roten Abart dieselben chemischen Reaktionen, welche mit dem Auszuge aus Ratin erhalten wurden. Mit diesem Auszuge durchtränktes Brot bekam Farbe, Aussehen und Reaktion des Ratins.

Da allgemein angenommen wird, daß ein wässeriger Auszug von Scilla, auf über 100° C erhitzt, seine giftigen Eigenschaften einbüßt, was bei Ratin nach unseren Versuchen nicht der Fall war, so wurden Kontrollversuche mit dem Auszuge der roten Meerzwiebel angestellt. Es erwies sich, daß die Zwiebel bei den obengenannten Verhältnissen nichts von ihren giftigen Eigenschaften verliert.

Nachdem wir auf diese Weise den Grund der Wirkung des Ratins ermittelt hatten, versuchten wir auch, in dem Ratin selbst einige Lamellen der Meerzwiebel zu finden. Es wurde nach Durchsuchen von mehreren Blechdosen ein Stückchen einer Lamelle von ca. 3 mm Länge und 1 mm Breite gefunden, welches sich bei der mikroskopischen Untersuchung als zu den Liliaceen gehörig erwies, zu welcher Familie auch, wie bekannt, die Meerzwiebel gehört. Allein Raphiden von Calciumoxalat wurden nicht gefunden.

Aus allen bei der Untersuchung erhaltenen Resultaten läßt sich folgern, daß das Mittel Ratin II, welches von der dänischen Firma als Bakterienkultur vernichtend für Ratten, unschädlich für Haustiere und den Menschen in Handel gesetzt wird, nicht bakteriellen Ursprungs ist. Es stellt ein Gift dar, welches hauptsächlich deshalb gefährlich ist, weil die Firma die Anwesenheit des letzteren im Präparate verheimlicht.

Wir erlauben uns zum Schluß folgende wenige Worte aus einem Schriftchen, welches für das Ratin Reklame macht, zu erwähnen: „Nur ist das Legen von Giftpräparaten, einschließlich der Meerzwiebelpräparate, deshalb auch noch gefährlich, weil Haustiere daran Schaden nehmen können [1].“

---

[1] Einiges über Ratten und ihre Vertilgung durch „Ratin“. Berlin und Halle a. S., Laboratorium für bakteriologische und chemische Präparate (Walter Kuhlow). Halle a. S. (R. Paul Nietschmann, Buchdruckerei). 1908. p. 6.

Nachdruck verboten.

On the presence of the Spirochaete pallida (Treponema pallidum) in the ova of a congenital syphilitic child.

[From the Bacteriological Laboratory, London Hospital
Medical College.]

By **James McIntosh,** M. D.

With 3 figures.

The demonstration of the Spirochaete pallida in the ova of infants suffering from congenital syphilis is of considerable importance to those who are interested in the scientific aspect of syphilis. It is some considerable time since the possibility of the infection of the offspring through the intermediary of the ovum in congenital syphilis was first put forward, but this view had always received scant notice, even after it had been shown that certain infections in the lower animals were transmitted in this way — the argument usually being that such an infection would lead to an early destruction of the ovum. At the present time, however, we know, as it was first shown by Pasteur in the case with the eggs of silk worm moths infected with the micro-sporidium of Pébrine (6), that a micro-organismal infection of the ovum derived from either of the parents does not necessarily destroy it, other examples are mosquitoes harbouring the Trypanosoma noctuae of owls (8), and the Tick Ornithodorus moubata which spreads African recurrent fever (2). In the latter instance, the Spirochaete Duttoni, a larger organism than the Spirochaete pallida, does not destroy the infected ovum, so there is no valid reason why the Spirochaete pallida should destroy the human ovum. The Spirochaete pallida has not yet been demonstrated in the ovum of a syphilised woman, but such an occurrence is by no means improbable as this spirochaete has been demonstrated in the ova of congenital syphilitic infants. If we admit, indeed, that such an infection is possible, we must not lose sight of the fact that some 90% of all cases of congenital syphilis present definite lesions in the liver which indicates that infection through the placenta is by far the commonest tract by which invasion takes place.

Magalhaes (4) and Simmonds (5) were the first to show that the ovaries in congenital syphilitic infants frequently contained large numbers of spirochaetes, while Levaditi (3), in collaboration with Sauvage, was the first to demonstrate de Spirochaete pallida inside the ova of such children. His observations have since been confirmed by Bab (1).

The mother, of the infant on whom the observations were made, a primipara, contracted syphilis at the very commencement of pregnancy, as there was a definite history of secondary symptoms (rash, etc.) about the 3rd or 4th month. The child was born at full term, and was apparently quite healthy until about 4 days after birth, when a more or less general coppery coloured areolar rash appeared; while a day or two later numerous bullae appeared on the back and buttocks. From this date the child gradually went downhill, and died 14 days after its birth.

Autopsy. The child was fairly well nourished, and over the greater part of its body a coppery coloured rash was observed, while on the back and buttocks numerous small ulcerated areas were noticed. The liver was considerably enlarged, of a flinty colour, and was firm and elastic to the touch; while, dotted through its substance, were numerous white areas about the size of a pin's head, the miliary syphilitic gummata of Virchow. The spleen was enlarged, measuring about 3 inches in length, and was of a deep purple colour; while the malpigian bodies were well marked. Both supra-renals were enlarged, and also the thymus gland, which reached down to the level of the second costal cartilage. On cutting into the thymus gland, a considerable

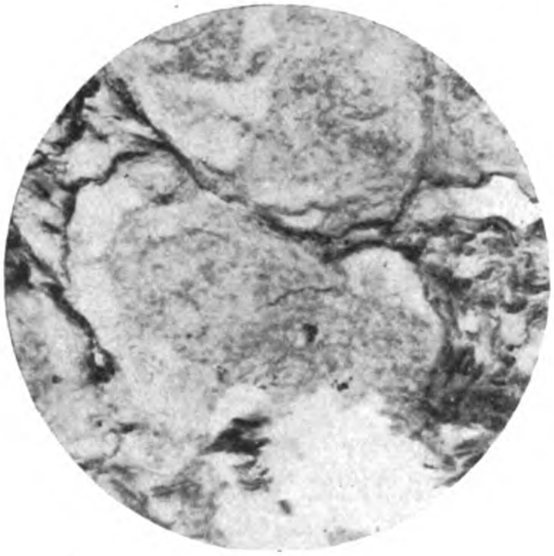


Fig. 1.

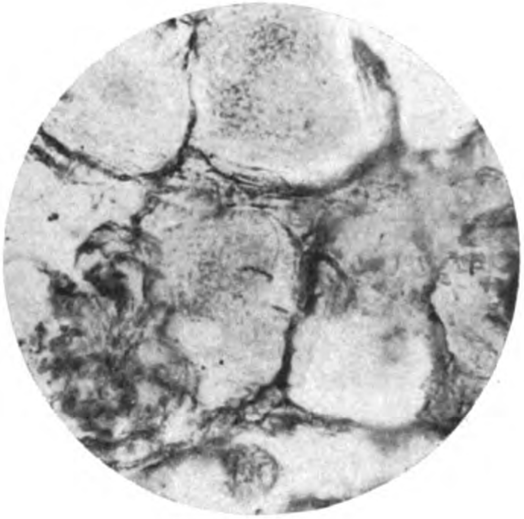


Fig. 2.

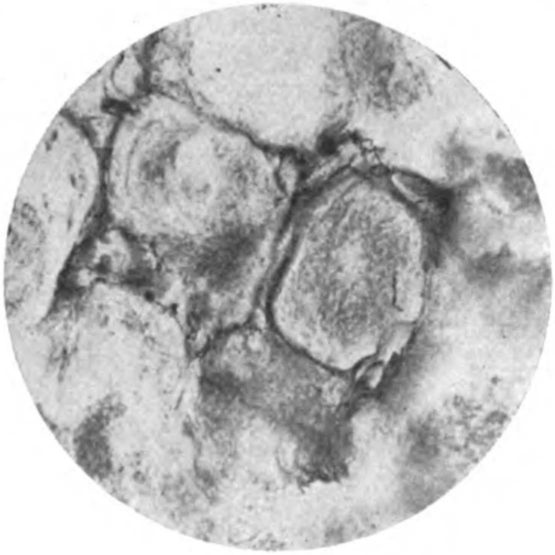


Fig. 3.

Fig. 1 to 3. Spirochaete pallida in protoplasm of ovum in the Graafian follicle. (× 1000.)

quantity of thick yellowish coloured fluid escaped. The lungs showed small areas of consolidation at the roots.

Marked histological changes were found in the liver, spleen, lungs, and supra-renals, chiefly of the nature of a hypertrophy of the connective tissue, along with a small celled infiltration at certain spots. In the case of the supra-renal glands, these changes were more extensive and small necrotic areas were also seen in the medullae of the glands. Pieces of the organs were also stained by Levaditi's silver process, and examined for the Spirochaete pallida, which was found in enormous numbers in all.

Both ovaries appeared to be of normal size, and no gross histological changes were met with. In a few instances, however, one or two of the Graafian follicles appeared to be slightly atrophied, though the nuclei had not lost their affinity for staining materials, while the walls of the arteries in the hilum of the ovaries were slightly thickened. Spirochaetes were present in enormous numbers in the connective tissue of the hilum, though in the actual substance of the ovary they were few in number, and were found chiefly in the tissue between the follicles, while in a few instances they were observed in the protoplasm of the ovum inside the Graafian follicle.

Evidently, the Spirochaete pallida passes upwards into the ovary through the intermediary of the connective tissue stroma, and from this stroma passes into the Graafian follicles. The invasion of the ovary, therefore, by this parasite is quite similar to what occurs when the Spirochaete pallida invades any glandular structure (5).

The majority of follicles in which spirochaetes were found showed no degenerative changes, even when as many as two or three spirochaetes were present.

From these observations and those of others on this subject, it is apparently no longer legitimate to deny the possibility of the transmission of the Spirochaete pallida directly through the ovum of a syphilised woman to her offspring.

References.

1) Bab, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 12. p. 2, 265.
2) Koch, Dtsche med. Wochenschr. 1905. No. 47. p. 1, 866.
3) Levaditi et Sauvage, Compt. rend. de l'acad. des scienc. Paris. T. CXLIII. 1906. p. 559.
4) Magalhaes, Do Treponema pallidum. [These.] Rio de Janeiro 1906; cited in La Syphilis (Levaditi et Roché). Paris 1908.
5) McIntosh, Journ. Path. and Bacteriol. Cambridge. Vol. XIII. 1909. p. 245.
6) Pasteur, Compt. rend. de l'acad. des scienc. Paris. T. LXIII. 1866. p. 139.
7) Simmonds, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 27. p. 1, 303.
8) Schaudinn, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1904. No. 20. p. 390.

Nachdruck verboten.

Ueber die Sichtbarmachung der Geisseln und die Geisselbewegung der Bakterien.

Von **Karl Reichert,** Berlin.

Mit 30 Figuren.

I. Geschichtliche Vorbemerkungen.

Die Geißeln der meisten beweglichen Bakterienarten sind von solcher Zartheit, daß man sie im ungefärbten Zustande nicht sehen kann. Nur bei den allergrößten Arten gelang es einigen Forschern unter Anwendung der stärksten Vergrößerungen die ungefärbten Geißeln wahrzunehmen. So konnte Ehrenberg (1) 1838 als erster an Ophidomonas jenensis und bei Monas Okenii Geißeln erkennen. Später wurden auch bei anderen Arten die Bewegungsorgane beobachtet, und zwar von Cohn (2) an Spirillum volutans, an Ophidomonas sanguinea (3), bei Monas Warmingii und Rhabdomonas rosea, von Dallinger und Drysdale (4) an Bacterium termo und von Warming (5) an einigen roten Schwefelbakterien.

1877 photographierte Koch (6) zum ersten Male ungefärbte Geißeln. Und zwar bei Spirillum undula und bei zwei Stäbchenbakterienarten mit polaren Geißeln, von denen er den einen Bacillus tremulus nannte, während der andere wohl nicht näher bestimmbar ist. Koch bediente sich zur Darstellung der Geißeln der folgenden Methode: Er ließ die Bakterien auf dem Deckglase antrocknen, befestigte dieses ohne Zuhilfenahme eines Einschlußmediums auf dem Objektträger und betrachtete so die Bakterien. Dabei traten bei den oben erwähnten Arten die Geißeln, die sich also in der bestmöglichen Weise von dem umgebenden Medium im Lichtbrechungsvermögen unterschieden, zutage. Koch gibt ferner an, auch an Vibrio Rugula in derselben Weise Geißeln gesehen zu haben.

Während die obigen Forscher die Geißeln wahrscheinlich nur an toten oder im Absterben begriffenen Bakterien sehen konnten, die sich im Zustande der Antrocknung ans Deckglas befanden, gelang es Günther (7) zum ersten Male an sehr großen lebenden Spirillen direkt im hängenden Tropfen Geißeln wahrzunehmen.

Eingehend befaßte sich dann Migula (8) mit den Geißeln der Bakterien im allgemeinen und der Art ihrer Betätigung als Bewegungsorgane. Er erkannte deutlich, daß die Geißeln bei Spirillum volutans Schraubendrehungen vollführen und dadurch den Körper in Drehung versetzen und vorwärts bewegen.

Die oben erwähnten Beobachtungen stellen das Aeußerste dar, das man mit den damaligen optischen Hilfsmitteln erreichen konnte. Zwar gelang es allmählich mit Hilfe von Beiz- und Färbeverfahren bei allen beweglichen Bakterienarten Geißeln nachzuweisen, aber es war niemals möglich, die Geißeln an ungefärbten Stäbchenbakterien, Vibrionen, Coccaceen oder Spirochäten wahrzunehmen, und über die Art ihrer Betätigung insbesondere bei den allseitig begeißelten Bacillen war man auf Vermutungen angewiesen.

II. Technik der Untersuchungen.

In neuester Zeit haben die Methoden der mikroskopischen Untersuchung durch das Ultramikroskop eine Erweiterung erfahren. Da mit diesem Instrumente ein Mittel an die Hand gegeben war, mit dessen Hilfe man unter Umständen Gegenstände wahrnehmen konnte, die mit den gewöhnlichen Mikroskopen nicht mehr zu erkennen sind, so war es naheliegend, einmal das Ultramikroskop zur Sichtbarmachung der Geißeln lebender Bakterien zur Anwendung zu bringen.

Erschien es zunächst schon anziehend, beobachten zu können, in welcher Weise die Geißeln bei der Bewegung der Bakterien zur Betätigung gelangen, so konnte man fernerhin erwarten, daß die Zahl der Geißeln bei den lebenden, durch keinerlei schädigende Mittel beeinflußten Bakterien ein und derselben Art eine größere Konstanz aufweisen würde, als dies bei den gefärbten Bakterien der Fall ist. Dieses Merkmal hätte man dann vielleicht zur Unterscheidung nahe verwandter Arten, deren Differenzierung sich sonst nur in umständlicher und zeitraubender Weise durchführen läßt, wie z. B. der Typhusbacillen von Paratyphus und vom Bact. coli verwenden können.

Nun kann man allerdings mit dem ersten von Siedentopf und Zsigmondy konstruierten Ultramikroskope die Geißeln der Bakterien nicht sehen, wie ich mich in Gemeinschaft mit Herrn Prof. Zettnow zu überzeugen Gelegenheit hatte.

Es gelingt dies aber sehr wohl mit einem vereinfachten ultramikroskopischen Apparate, dem sogenannten Spiegelkondensor, so wie er von C. Reichert in Wien (9) hergestellt wird.

Ich bediente mich für die im folgenden beschriebenen Untersuchungen dieses Spiegelkondensors, der einfach an einem beliebigen Mikroskope angebracht wird. Zur Beobachtung verwendete ich meistenteils Reichert-Achromat-Objektiv No. 5 mit Kompensationsokular 18. Diese Zusammenstellung gibt bei 160 mm Tubuslänge 650-fache Vergrößerung. Es eignet sich aber für die hier in Betracht kommenden Verhältnisse auch sehr gut Reichert-Halbapochromat 6a+ mit dem gleichen Okulare und Apochromat 4 mm mit Kompensationsokular 8 oder 12. Diese verhältnismäßig schwachen Objektive in Verbindung mit den allerstärksten Okularen leisten hier die besten Dienste, und zwar deswegen, weil sie erstens ein großes Gesichtsfeld geben, und dieser Umstand kommt bei rasch dahineilenden Objekten in sehr vorteilhafter Weise zur Geltung, und weil sie zweitens außerordentlich kontrastreiche brillante Bilder liefern. Die geringere Auflösungsfähigkeit der Objektive gegenüber den Immersionen kommt hier kaum in Betracht, da es sich bei der in Rede stehenden Beleuchtungsart hauptsächlich um die Erzielung starker Kontraste handelt und auch die größte Auflösungskraft nichts nützt, wenn sie mit Verminderung der Kontraste einhergeht.

Als Lichtquelle benutzte ich eine 10-ampèrige Gleichstrombogenlampe, deren Strahlen beim Passieren einer Wasserkammer gekühlt und vermittelst eines Systems von Beleuchtungslinsen parallel gemacht wurden. Statt der Wasserkammer und der Beleuchtungslinsen kann man auch einfach eine Schusterkugel nehmen, die dasselbe, allerdings in weniger vollkommener Weise als jene, leistet.

Die Bakterien wurden stets in der Flüssigkeitsschicht zwischen Objektträger und Deckglas betrachtet. Die Beobachtung im hängenden Tropfen läßt sich nicht durchführen, da die Art der Lichtzufuhr die Einschaltung einer Luftschicht in den Strahlengang des Spiegelkondensors (zwischen Kondensor und Präparatflüssigkeit) nicht zuläßt. Die auf die erste Art angefertigten Präparate halten sich bei Deckgläsern von 18 mm im Quadrat $^1/_2$ bis 1 Stunde lang gebrauchsfähig. Will man die Beobachtungen auf längere Zeiten ausdehnen und sich von Strömungen beim allmählichen Eintrocknen unabhängig machen, so muß man das Deckglas mit Wachs, Paraffin oder Vaseline umranden. In verschlossenen Präparaten halten sich manche Bakterienarten, z. B. die Spirillen, insbesondere wenn sich in der Flüssigkeitsschicht einige Luftblasen befinden, 5—6, vereinzelt sogar bis zu 12 Stunden in Bewegung.

Da der Vorzug der in Anwendung gezogenen Beleuchtungsmethode gegenüber der sonst gebräuchlichen hauptsächlich auf einer stärkeren Kontrastwirkung beruht, hat man sorgfältigst all das zu vermeiden, was den Kontrast verringern könnte. Als kontrastmindernd kommen in Betracht: Verunreinigungen des Objektträgers oder Deckglases, sowie eine zu große Materialanhäufung im Präparate. Es ist für die vorliegenden Untersuchungen unbedingt notwendig, Objektträger und Deckgläser, aber zum mindesten doch die ersteren, mit feingeschliffenen Oberflächen zu verwenden. Zum Gebrauche werden dieselben mit Wasser und dann mit Alkohol abgespült und an fettfreien reinen Tüchern getrocknet. Gebrauchte Gläser läßt man, nachdem man die Deckgläser entfernt und die Oberseite mit Wasser gründlich abgespült, die Unterseite mit Hilfe von Xylol von Cedernöl gereinigt hat, 48 Stunden lang oder länger in konzentrierter Schwefelsäure, der etwas Kaliumbichromat zugesetzt wurde, liegen, und behandelt sie, nachdem man sie gründlich mit Wasser gespült hat, wie oben mit Alkohol. Benötigt man die Objektträger gleich wieder, so kocht man sie eine Viertelstunde lang im Schwefelsäurebad. Lassen sich die Deckgläser nicht ohne weiteres entfernen, so erhitzt man die Objektträger etwas über der Flamme oder im Wasserbade.

Bei der Anfertigung von Präparaten verfährt man derartig, daß man einen Tropfen Flüssigkeit auf den Objektträger bringt, in denselben eine Spur Bakterienmaterial verteilt, so daß noch kaum eine Trübung wahrzunehmen ist, und darüber ein Deckglas stülpt, welch letzteres man gegebenenfalls umrandet. Die richtige Menge des anzuwendenden Bakterienmaterials lernt man am besten nach einigen Versuchen abschätzen. Es ist stets vorteilhafter, eher zu wenig als zu viel Material in Präparaten zu haben, da im letzteren Falle die Beobachtung eines einzelnen Individuums durch die in der nächsten Umgebung befindlichen Bakterien verhindert oder doch erschwert wird. Die Menge der verwendeten Flüssigkeit muß so abgemessen sein, daß nur eine ganz dünne Flüssigkeitsschicht zwischen Objektträger und Deckglas entsteht, keinesfalls dürfen mehrere Lagen von Bakterien übereinander Platz haben.

III. Sichtbarmachung der Geißeln ungefärbter Bakterien im Dunkelfelde.

Als erstes Untersuchungsobjekt wurde Spirillum volutans gewählt. Es wurden nur ganz frische (12—24 Stunden alte) bei 28° gezüchtete Kulturen in Verwendung gezogen. Betrachtet man Spirillen, die von der schrägen Agaroberfläche genommen und in destilliertem Wasser aufgeschwemmt wurden, so kann man trotz deutlich wahrnehmbarer Eigenbewegungen der Bakterien von Geißeln nichts erkennen.

Verwendet man jedoch Leitungswasser als Aufschwemmungsmedium, so treten schon an einzelnen in rascher Vorwärtsbewegung befindlichen Individuen die Geißeln als lange, wellige, nach rückwärts gerichtete Fäden in Erscheinung. Viel allgemeiner kommen aber Geißeln in schwachen Salzlösungen zum Vorschein, z. B. in 1-proz. Kochsalzlösung. Man bemerkt da fast an jedem der in Bewegung befindlichen Spirillen je eine nach rückwärts gestellte Geißel. Aehnlich wie die Kochsalzlösung verhalten sich bezüglich der Sichtbarmachung der Geißeln die Lösungen der verschiedensten anderen Salze, wenn sie nur in solch geringer Konzentration zur Anwendung gebracht werden, daß sie auf die Bakterien nicht schädigend einwirken, so z. B. Lösungen von Chloriden, Bromiden, Sulfaten, Nitraten, Carbonaten, Phosphaten, Perchromaten der Alkalimetalle, die Lösungen ähnlicher Verbindungen der Erdalkali- und der Schwermetalle (soweit dieselben natürlich vorkommen). In ähnlicher Weise wirken auch die Lösungen schwacher Säuren, z. B. von Essigsäure, Oxal-, Zitronen-, Weinsäure, wenn die Spirillen direkt von der

Oberfläche einer Agarkultur in einen Tropfen der betreffenden Lösung gebracht werden.

Bei den Bacillen versagt aber diese Art der Darstellung der Geißeln vollkommen.

Nun hat insbesondere A. Fischer (11), ferner auch Migula (8) p. 133 darauf hingewiesen, daß Konzentrationsänderungen des Aufschwemmungsmediums wahrscheinlich schädigend auf die Geißeln einwirken. Bei den Spirillen, die ja verhältnismäßig grobe Geißeln besitzen, mochten geringe Konzentrationsänderungen keine große Rolle spielen. Sie konnten dagegen auf die zarten Geißeln der Bacillen möglicherweise einen schädigenden Einfluß ausüben, so daß in den betreffenden Medien gar nichts mehr von den Geißeln wahrzunehmen war. Man konnte auch vermuten, daß die Geißeln der Spirillen nur deswegen im destillierten Wasser nicht zu sehen seien, weil sie dort infolge der Aenderung der osmotischen Verhältnisse, die sie beim Uebertragen von der Agaroberfläche ins Wasser erleiden, geschädigt würden, oder wie A. Fischer annimmt, weil sie dort aufquellen. Wollte man also jede Aenderung der osmotischen Verhältnisse vermeiden, so mußte man die Bakterien direkt in dem Medium untersuchen, in dem sie gezüchtet worden waren.

Spirillen, die man in Bouillon oder im Agarkondenswasser betrachtet, in denen sie gewachsen waren, weisen keinen wesentlichen Unterschied bezüglich der Geißeln gegenüber denjenigen auf, die von der Agaroberfläche genommen und in einer der vorhin genannten Lösungen untersucht werden. Nur ist die Bewegung der Bakterien in den Nährmedien begreiflicherweise eine durchweg lebhaftere und länger andauernde.

An den Bacillen, z. B. an Typhusbacillen, kommen die Geißeln in Bouillon zwar auch nicht zum Vorschein, wohl aber im Agarkondenswasser. Man sieht darin an jedem Bakterium einen langen welligen Faden, der dem Körper nachgezogen wird. Noch besser als im Kondenswasser sind die Geißeln in flüssiger Nährgelatine von 1-proz. Gelatinegehalt zu erkennen, besonders dann, wenn die Bacillen direkt darin gezüchtet wurden. Bei Typhusbacillen treten in diesem Falle 3—5, oft bis zu 7 Geißeln an einem Individuum in Erscheinung.

In ähnlicher Weise wie bei den Typhusbacillen wurden die Geißeln bei einigen anderen Bacillenarten beobachtet: so bei Paratyphus B, bei Proteus vulgaris, Bact. coli, Bac. prodigiosus und bei Bac. Gärtner. Weniger gut sind die Geißeln bei Bac. mycoides und bei Bac. subtilis wahrzunehmen. Allgemein sei bemerkt, daß die Geißeln aller Bacillenarten am besten stets bei den in lebhafter Bewegung befindlichen Individuen zu sehen sind. Sowie aber die Bacillen zur Ruhe kommen, oder sich nur mehr ganz langsam ohne ausgesprochene Vorwärtsbewegung hin- und herwinden, verschwinden zumeist die Geißeln. Es ist dies dadurch zu erklären, daß bei energischer Vorwärtsbewegung stets mehrere Geißeln aneinanderhaften und auf diese Weise nicht die einzelnen Geißeln sondern nur Geißelverbände, die sogenannten Zöpfe, zur Wahrnehmung gelangen. Läßt die Bewegung beim beginnenden Absterben der Bacillen nach, dann werden die Zöpfe zumeist entfaltet und die Einzelgeißeln sind zu zart, um noch wahrgenommen zu werden. Bei Spirillum volutans, bei denen ebenfalls Zopfbildung und Entfaltung eintritt, sind die Geißeln aber an den in Ruhe befindlichen Individuen fast ebensogut zu sehen wie an den rasch beweglichen. Ungefähr ebensogut wie bei Spirillum volutans werden die Geißeln einer

Pseudomonas-Art[1]), nämlich von Pseudomonas syncyanea (Bac. cyanogenus = Bakt. der blauen Milch) sichtbar. Sie kommen ebenfalls in manchen Salzlösungen und besser noch in Bouillon, Agarkondenswasser oder flüssiger Nährgelatine zum Vorschein.

In den drei zuletzt genannten Nährflüssigkeiten sind auch die Geißeln zweier weiterer Spirillenarten sichtbar, nämlich vom Spirillum concentricum und Spirillum rubrum.

Den Bacillen kommen in ihrem Verhalten in bezug auf die Sichtbarmachung der Geißeln zwei Sarcina-Arten gleich: Sarcina mobilis Schaudinni und Sarcina Haeckeli, die mir von Herrn Prof. Zettnow in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt wurden. Es sind hier die Geißelzöpfe im Agarkondenswasser und in flüssiger Nährgelatine zu sehen.

Eine gewisse Sonderstellung nehmen hinsichtlich der Sichtbarmachung der Geißeln die Vibrionen ein. Die Geißeln sind in destilliertem Wasser ebensowohl wie in einem anderen Medium zu erkennen. Daraus folgt, daß die Vibrionen wohl die gröbsten Geißeln unter den Bakterien besitzen. Es wurden die Geißeln bei folgenden Vibrio-Arten beobachtet: Vibrio cholerae asiaticae, V. Dunbar, V. Metschnikoff, V. Elwers, V. Nasik, V. Finkler.

Geißeln treten im Dunkelfeld ferner bei den Spriochäten in Erscheinung, sie sind aber zumeist nur an einzelnen Individuen wahrzunehmen. Untersucht wurden: Tickfever-Spirochäten und Spirochaete gallinarum (Hühnerspirochäten).

Nicht wahrnehmbar blieben die Geißeln aber bis jetzt bei einigen kleineren Pseudomonas-Arten, so bei Bac. fluorescens liquefaciens, Bac. fluorescens non liquefaciens und Bac. pyocyaneus.

IV. Untersuchungen über die Bedingungen zur Sichtbarmachung der Geißeln.

1. Einfluß der optischen Verhältnisse bei der Darstellung der Geißeln.

Im vorhergehenden Abschnitte wurden die Versuche beschrieben, die die Sichtbarmachung der Geißeln vieler Bakterienarten im ungefärbten Zustande zum Ergebnis hatten. Aus diesen Versuchen war noch nicht mit unzweifelhafter Deutlichkeit hervorgegangen, auf welche Umstände diese Sichtbarmachung zurückzuführen sei. Da bei den Untersuchungen eine neuartige optische Beleuchtungsmethode zur Anwendung gekommen war, deren Differenzierungsvermögen dann die größte Steigerung erfährt, wenn die zu beobachtenden Gegenstände in ihre optischen Eigenschaften vom umgebenden Medium möglichst stark abweichen, so war es am naheliegendsten anzunehmen, daß optische Verhältnisse bei der Darstellung der Geißeln die Hauptrolle spielen würden. Sonach hätte es sich also bloß darum gehandelt, Medien zu finden, die sich im Brechungsvermögen von demjenigen der Geißeln möglichst stark unterscheiden und in denen die Bakterien keinerlei Schädigung erfahren. Nun hatten die ersten orientierenden Versuche über diesen Gegenstand, die mit Spirillum volutans angestellt worden waren, ergeben, daß die Geißeln dieser Bakterien niemals im destillierten Wasser zu sehen sind. Man erhielt dasselbe Ergebnis, gleichgültig ob man die Spirillen lebend in lebhafter Bewegung betrachtete, oder in unbeweglichem Zustande, nachdem man sie durch Osmiumsäuredämpfe abgetötet hatte.

---

[1] Es sollen hier und im folgenden für die Gattungen der Bakterien allgemein die von Migula (8, p. 46) vorgeschlagenen Bezeichnungen angewendet werden. Migula zählt zur Gattung Pseudomonas alle Stäbchenbakterien mit polaren Geißeln, in die Gattung Bacillus gehören dagegen die allseitig (peritrich) begeißelten Stäbchenbakterien. Die Gattung Spirillum umfaßt die Arten mit schraubig gewundenem Körper und mit polaren Geißelbüscheln, Microspira oder Vibrio ebenfalls mit schraubigem Körper, jedoch mit nur einer, höchstens 2—3 polaren Geißeln.

Es wurde ferner auch schon erwähnt, daß die Verhältnisse sich ändern, sowie man andere Medien zur Anwendung bringt. Im gewöhnlichen Leitungswasser z. B. sind an den in rascher Bewegung begriffenen Spirillen schon vereinzelt Geißeln zu sehen. Besser und allgemeiner treten die letzteren in indifferenten Salzlösungen von geringer (0,5 bis 1-proz.) Konzentration hervor, und zwar am besten dann, wenn die Spirillen direkt von der Agaroberfläche in die betreffende Lösung gebracht werden, so z. B. in Lösungen von NaCl, KCl, KI, KBr, $NaNO_3$, KNO_3 usw. Die Geißeln werden ferner sichtbar in stark verdünnten Säurelösungen, so von HCl, HNO_3, H_2SO_4, von Essig-, Oxal-, Weinsäure usw., von Methyl- und Aethylalkohol, ferner in Formaldehydlösung, ja selbst in Lösungen von Gelatine und arabischem Gummi. Am besten sind die Geißeln wohl in Bouillon oder in verflüssigter Nährgelatine und im Kondenswasser von Agarnährböden wahrzunehmen. Unsichtbar bleiben sie dagegen in Glyzerin- oder Zuckerlösungen.

Es lassen sich bei oberflächlicher Betrachtung zunächst noch keinerlei Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Lösungen erkennen. Bewegen sich die Spirillen in denselben lebhaft, so sieht man stets nur eine nach rückwärts gerichtete Geißel an jedem Individuum. Findet die Bewegung nur langsam und träge statt, so treten mitunter 2—3 Geißeln in Erscheinung. Wurden die Spirillen zuerst im destillierten Wasser aufgeschwemmt, durch Osmiumsäurezusatz abgetötet und dann in die Lösungen verteilt, so zeigen sich 1—4, oft selbst bis zu 6 Geißeln.

Zufolge der obenerwähnten Auffassung, wonach für die Geißeldarstellung ein möglichst großer Unterschied der Brechungsvermögen von Geißel und umgebendem Medium Bedingung ist, müßte man zu der Annahme kommen, daß Geißelsubstanz und destilliertes Wasser die gleiche Lichtbrechung besitzen, da die Geißeln im letzteren nicht zu sehen sind. Zur Wahrnehmung würden sie erst gelangen in Medien, deren optische Eigenschaften von denjenigen des Wassers abweichen, und zwar um so besser, in je stärkerem Maße dies der Fall ist.

Tabelle I.

Medium	Konzentration	Lichtbrechungsexponent bei 17° für mittleres gelbes Licht von der Wellenlänge $\lambda = 589\ \mu\mu$ (Na-Linie)
Wasser	—	1,3336
Rohrzuckerlösung	2-proz.	1,3368
	10-proz.	1.3475
	20-proz.	1,3635
Kochsalzlösung	1-proz.	1.33491
	10-proz.	1,35068
Glyzerinlösung	15-proz.	1,3973
Nährgelatinelösung	1-proz. Gelatinegehalt	1,4051 1)

---

1) Gemessen mit Tornoes Refraktometer zur Bieranalyse (hergestellt bei Schmidt & Hänsch, Berlin).

In der vorstehenden Tabelle I findet man das Lichtbrechungsvermögen für einige der angewandten Medien angegeben. Die Daten sind den Chem.-Physikal. Tabellen von Landolt und Börnstein entnommen.

Die Medien sind dabei nach steigendem Brechungsvermögen angeordnet. Es müßte also auch das Geißeldarstellungsvermögen in derselben Reihenfolge ansteigen. Dies ist in keiner Weise der Fall. Vielmehr reihen sich die Medien in dem zuletzt erwähnten Sinne angeordnet folgendermaßen aneinander: Wasser, Glyzerin-, Rohrzucker-, Kochsalz-, Nährgelatinelösung. Nur Anfangs- und Endglied sind in beiden Reihen die nämlichen. Die anderen Glieder erfahren eine Umstellung.

Die 1-proz. Kochsalzlösung unterscheidet sich im Brechungsvermögen nur sehr wenig vom destillierten Wasser, dennoch bewirkt sie eine weitgehende Darstellung der Geißeln. In Glyzerin- und in 10-proz. Rohrzuckerlösung dagegen, die bezüglich der Lichtbrechung bedeutend mehr vom destillierten Wasser abweichen als die 1-proz. NaCl-Lösung, bleiben die Geißeln unsichtbar. Ebenso läßt sich bei den vielen anderen in Untersuchung gezogenen Elektrolytlösungen keinerlei Zusammenhang zwischen Brechungsvermögen und Intensität der Geißeldarstellung erkennen, wenn auch bei jeder einzelnen dieser Lösungen die Wirkung mit steigender Konzentration bis zu einem gewissen Optimalpunkte stetig zunimmt.

Es sei diesbezüglich auf die Tabelle II verwiesen, in der die mittleren[1]) Brechungsexponenten einiger Substanzen in kristallinischer Form und die Daten derselben Substanzen für die Intensität der Geißeldarstellung (Sichtbarmachung der Geißeln) angegeben sind. Die zuletzt erwähnten Zahlen stellen die reziproken Werte jener molekularen Konzentration der betreffenden Substanzen in wässeriger Lösung dar, bei denen eben jede Sichtbarmachung der Geißeln erlischt. Sie sind einer im folgenden zu beschreibenden Versuchsreihe entnommen:

Tabelle II.

Substanz	Mittlerer Brechungsexponent (nach Landolt und Börnstein)	Molekulares Geißeldarstellungsvermögen × 10
Eisenoxydulsulfat	1,4784	11 136
Nickelsulfat	1,4826	27 778
Eisenoxydulammonsulfat	1,490	76 923
Kaliumsulfat	1,4953	8 333
Uranylnitrat	1,4967	101 010
Lithiumkarbonat	1,522	436
Calciumsulfat	1,5247	10 204
Kupfersulfat	1,5338	15 528
Natriumchlorid	1,5442	1 170
Rohrzucker	1,5568	34
Kaliumjodid	1,6666	132
Kaliumchromat	1,7254	2 941

Aus dieser Zusammenstellung geht wohl mit noch größerer Deutlichkeit als aus Tabelle I hervor, daß irgendwelche Beziehung zwischen Lichtbrechungs- und Geißeldarstellungsvermögen der verschiedenen Substanzen nicht festzustellen ist.

Da somit die in Betracht kommenden optischen Verhältnisse keinen Aufschluß zu geben vermögen, auf welche Ursachen die Darstellung der

---

[1]) Als mittlerer Brechungsexponent soll bei doppelt brechenden Substanzen das arithmetische Mittel der Hauptbrechungsexponenten bezeichnet werden.

Geißeln in wässerigen Lösungen zurückzuführen ist, mußte man sich nach anderen Erklärungsmöglichkeiten umsehen.

2. Die osmotischen Verhältnisse der Aufschwemmungsmedien. Beobachtung der Plasmolyse der Bakterien bei Dunkelfeldbeleuchtung.

In zweiter Linie könnten da die osmotischen Verhältnisse in Betracht kommen. Es ist aus den Versuchen von A. Fischer (12) bekannt, daß die Bakterienzelle durch Aenderung der osmotischen Verhältnisse des Aufschwemmungsmediums in derselben Weise beeinflußbar ist, wie die Pflanzenzelle.

Ueberträgt man die Bakterien aus einer Lösung von geringem osmotischen Drucke in eine solche von höherer Konzentration, dann tritt wenigstens bei vielen Bakterienarten Plasmolyse ein, d. h., das Innere des Bakterienkörpers schrumpft durch Wasserverlust zu einer kompakteren Masse von höherem Lichtbrechungsvermögen zusammen. Man könnte nun meinen, daß sich auch bei den Geißeln ähnliche Vorgänge vollziehen würden, und daß dadurch ihre Darstellung in den verschiedenen Lösungen bedingt sei.

Zu den plasmolysierbaren Bakterienarten zählen nach A. Fischer auch die Spirillen, und es ist auch ohne weiteres möglich, z. B. bei Spirillum volutans, die Erscheinungen der Plasmolyse hervorzurufen, wenn man die Bakterien aus einer Aufschwemmung im destillierten Wasser in eine 5—10-proz. Salz- oder Zuckerlösung überträgt, oder wenn man sie direkt von der Agaroberfläche in einer solchen Lösung aufschwemmt.

Es wurden diesbezüglich eingehende Versuche mit Kochsalz-, Kobaltnitrat- und Zuckerlösungen unternommen. Es hat sich dabei herausgestellt, daß die Plasmolyse im allgemeinen stärker auftritt, wenn man die Bakterien direkt von der Agaroberfläche in die betreffende Lösung bringt, als wenn sie vorher im destillierten Wasser aufgeschwemmt und dann erst in das osmotisch wirkende Medium übertragen werden. Die vorherige Behandlung der Bakterien mit Osmiumsäure hält die Plasmolyse zwar zurück, verhindert sie aber nicht vollständig.

An den Bakterienkörpern treten dabei folgende Erscheinungen auf: Beim direkten Uebertragen der Bakterien von der Agaroberfläche in Lösungen von geringer Konzentration, z. B. in 1-proz. Kochsalzlösung, kann man die ersten Anzeichen von Plasmolyse wahrnehmen. Es treten an einzelnen Bakterien an einem oder an beiden Polen Kuppen auf (s. Fig. 1), die wohl dadurch entstanden sind, daß sich der Inhalt der Zellen kontrahiert hat und die Zellmembran in ihrer Lage verblieben ist. Häufig sind die Kuppen weniger hell und erscheinen schmäler als der übrige Teil des Bakterienkörpers. Man muß wohl annehmen, daß die Membran weniger stark lichtbrechend als das Zellinnere und dehnbar ist und daß an den Stellen, an denen sie dem Plasma anliegt, straff in Spannung erhalten wird, indes sie sich an den Hohlräumen, von denen das Plasma zurückgewichen ist, kontrahiert.

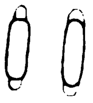


Fig. 1.

In 5-proz. und noch mehr in 10-proz. Kochsalzlösung tritt dann die Plasmolyse ganz allgemein und häufig in viel stärkerem Grade auf. Man trifft aber stets noch einige Individuen an, die ganz normal geblieben sind. Das Innere der plasmolysierten Zellen hat sich oft in 2—3 Teile geteilt, die deutlich voneinander abgesetzt sind (s. Fig. 2). Diese Teile sind stets hellleuchtend, während sich an den dazwischen liegenden Stellen die wenig leuchtende Membran meist zusammengezogen hat. Doch kommen auch Individuen vor, bei denen die Membran selbst an den Stellen, an welchen sich das Plasma zurückgezogen hat, ebenso hell wie gewöhnlich ist und auch ihre ursprüngliche Lage beibehalten hat. Wahrscheinlich liegt der Membran in solchen Fällen noch ein dünner Plasmabelag an. Die Volutanskugeln schrumpfen bei der Plasmolyse ganz zusammen, d. h. der Innenraum wird ganz klein, punktförmig, sie nehmen die Gestalt von fast kompakten Körnern an und verschwinden schließlich ganz. Doch ist dieses Verschwinden auch hauptsächlich darauf zurückzuführen, daß die Lichtstrahlen an den Stellen des kontrahierten Plasmas das Innere nicht mehr durchsetzen können. Häufig erscheinen die plasmolysierten Stellen auch rötlich-braun gefärbt.

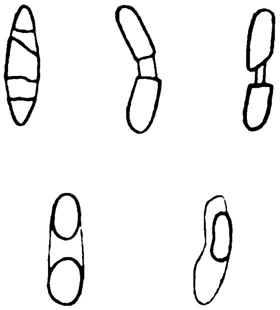


Fig. 2.

In Lösungen von noch stärkerer Konzentration, also z. B. in 20-proz. Kochsalzlösung, ist die Plasmolyse entsprechend noch allgemein stärker und es tritt noch die weitere Erscheinung hinzu, daß häufig der Bakterienkörper als Ganzes geschrumpft und verkrümmt ist und einen Stich in rötlich-braune Färbung angenommen hat. Und zwar schrumpft merkwürdigerweise die Zelle nicht nach allen Dimensionen gleichmäßig, der Körper erscheint vielmehr ganz platt gedrückt, ist dabei aber meist noch etwas schraubig gewunden und zeigt mitunter an einzelnen Stellen noch Verdickungen. Es tritt diese Erscheinung mit ganz unzweifelhafter Deutlichkeit hervor, da man die Bakterien manchmal von der Breit-, manchmal von der Schmalseite aus zu sehen bekommt (s. Fig. 3). Diese Erscheinung spricht für das Vorhandensein von Längsfibrillen als Strukturelemente der Membran.

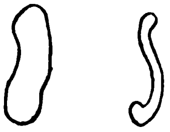


Fig. 3.

Ganz ähnliche Beobachtungen macht man bei Kobaltnitrat- und bei Zuckerlösungen.

Die Geißeln dürften wohl gar nicht plasmolysierbar sein. Zum mindesten erscheinen sie in einer 20-proz. Kochsalzlösung genau in derselben Weise und ihrer normalen schraubig gewundenen Form ebenso wie in der 1-proz. Lösung. In den Lösungen mancher Substanzen sind allerdings die Geißeln bei stärkerer Konzentration oft gar nicht oder mitunter nur stark formverändert, verkürzt und beinahe gerade gestreckt zu sehen. Derartige Erscheinungen treten aber nur in Lösungen auf, die nicht neutral reagieren, so in Lösungen von Säuren (HCl-, HNO_3-, H_2SO_4-, Oxal-, Wein-, Essigsäure) oder in sauer reagierenden Salzlösungen (von Kupferchlorid, Goldchlorid, Eisenchlorid, Aluminiumsulfat usw.). Es handelt sich in diesen Fällen ohne Zweifel um rein chemische Beeinflussung der Geißeln.

Spricht schon die vollkommene Unveränderlichkeit der Geißeln in Lösungen verschiedener Konzentrationen gegen die Annahme, daß ihre Sichtbarmachung auf osmotischen Einwirkungen des Aufschwemmungsmediums zurückzuführen seien, so macht vollends der Umstand diese Annahme hinfällig, daß die Geißeln, die im destillierten Wasser vom osmotischen Druck gleich 0, nicht zu sehen sind, auch in den stark osmotisch wirkenden Zuckerlösungen nicht sichtbar werden, daß sie dagegen in manchen Kolloidlösungen, wie Agar- und Gelatinelösung, von ganz geringem osmotischen Drucke zur Darstellung gelangen.

Schließlich muß noch ein anderer Umstand hier Erwähnung finden, der möglicherweise von ganz ausschlaggebender Bedeutung für die Sichtbarmachung der Geißeln ist. Es ist dies das Zusammenkleben oder die sogenannte Zopfbildung der Geißeln, von der schon Loeffler (16), ferner Sacharoff (17) berichten.

3. Die Zopfbildung der Geißeln.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß Spirillum volutans Geißelbüschel besitzt, die aus einer größeren Zahl von Einzelgeißeln bestehen. Migula gibt die Zahl der letzteren mit 8 an. Es sind ihrer aber meistenteils mehr, und zwar lassen die Färbepräparate bis gegen 20 Geißeln an einem Pole erkennen. An den lebenden, in Bewegung befindlichen Spirillen kann man aber fast stets nur eine endständige Geißel sehen. Die Beobachtung lehrt, daß man es hier mit dem ganzen Geißelbüschel zu tun hat, dessen Teilgeißeln zusammenhaften. Dies geht zunächst schon aus der Gestalt der Geißeln hervor, die sich von der Basis (von ihrem Ansatzpunkte am Spirillenkörper) an gegen die Spitze zu verjüngt, was auf ungleiche Länge der zusammenklebenden Einzelgeißeln schließen läßt. Ganz einwandsfrei lehrt dies aber häufig direkt die Beobachtung von Spirillen, die in einem der dünnflüssigen Nährmedien aufgeschwemmt sind. Wurde das Präparat nicht umrandet, so stellen die Spirillen bei beginnender Eintrocknung die Vorwärtsbewegung ein. Sie bleiben am Objektträger liegen und wirbeln mit den Geißeln herum, ohne daß der Körper dadurch irgendwie in Mitbewegung versetzt wird. Plötzlich beginnen an einzelnen Stellen, und zwar scheinbar gerade dort, wo die Flüssigkeitsschicht am dünnsten ist, die Geißelbüschel sich zu entfalten. Möglicherweise spielt der mechanische Druck des Deckglases dabei eine wesentliche Rolle. Aus einer dicken Geißel entstehen durch Längsteilung 2—3 feinere, die sich unabhängig voneinander bewegen, bald stillehalten, bald weiterwirbeln, und die sich meist noch weiter in dünnere Fäden spalten. Oft kann man auf diese Weise bis zu 15 Geißeln an einem Pole wahrnehmen, von denen einzelne dicker als die übrigen sind, also wahrscheinlich noch aus mehreren Teilgeißeln bestehen. Es ist anzunehmen, daß man in dem zuletzt genannten Falle schon teilweise die feinsten Einzelgeißeln sehen kann. Oft findet auch ein teilweises oder vollständiges Wiederzusammenlegen der Einzelgeißeln und darauffolgendes Wiederentfalten statt.

Die Zopfbildung findet auch bei Pseudomonas-Arten, bei Bacillen und Sarcinen statt, überhaupt bei allen Bakterienarten, bei denen jedes Einzelindividuum regelmäßig ein Geißelbüschel oder eine Mehrzahl von Geißeln ausbildet, die von benachbarten Stellen der Membran entspringen. Die Zopfbildung ist besonders bei den zuletzt genannten beiden Arten für die Darstellung der Geißeln an den lebenden Individuen von wesentlicher Bedeutung, denn man hat es bei den Geißeln, die an lebhaft beweglichen Bakterien sichtbar werden, stets nur mit Zöpfen zu tun. Dies geht aus verschiedenen Beobachtungen hervor, die später noch eine ausführliche Erwähnung finden werden. Es sei hier nur bemerkt, daß man z. B. auch an Typhusbacillen unter günstigen Umständen ein völliges Entfalten der Geißelzöpfe beobachten kann.

Durch diese Beobachtungen werden verschiedene bis jetzt noch strittige Fragen erledigt. So 1) die Frage, ob bei den Geißeln der

Bakterien eine Verzweigung oder ein Zerfließen vorkommt, 2) die Annahme von A. Fischer (11, p. 149), daß die Bakterien Haupt- und Nebengeißeln besitzen, ferner auch die Frage, ob die von Zettnow (36) gefundene und von ihm Loefflerscher Korkzieherbacillus genannte Art mit den von Loeffler (15) abgebildeten Bakterien identisch ist, erledigt. Widerlegt wird dadurch auch Bütschlis Annahme, daß die Geißeln von Spirillen und mancher Schwefelbakterien einer mit dem Alter der Geißeln zunehmenden Zerfaserung unterliegen. Bütschli hatte in Geißelpräparaten von Ophidomonas jenensis, Chromatium okenii, Rhabdomonas rosea Cohn und von Spirillum volutans Cohn, die nach der Loefflerschen Methode hergestellt worden waren, eigenartige Erscheinungen an den Geißeln beobachtet, die er in Abbildungen wiedergibt. Es sind da Geißeln zu sehen, die als dicke Stränge vom Bakterienkörper ausgehen und sich dann in der Längenmitte oder erst nahe der Spitze in zwei oder mehrere feinere Fäden spalten. Auf Grund dieser Beobachtungen glaubt Bütschli von der alten Anschauung abgehen zu müssen, daß die Spirillen und die Schwefelbakterien aus zahlreichen Einzelgeißeln bestehende Geißelbüschel besitzen. Er nimmt vielmehr an, daß diese Geißeln einer allmählichen Zerfaserung unterliegen, wie die Cirren und Membranellen der Ciliaten und wie sie bei Einwirkung mazerierender Mittel auch bei den Geißeln der tierischen Spermatozoen nachgewiesen wurde. Durch die obigen Beobachtungen wird also, wie erwähnt, seine Auffassung widerlegt. Desgleichen wird auch seine Ansicht vom bandförmigen Querschnitte der Spirillengeißeln hinfällig. Seine Figuren 6b, 8 und 4c erklären sich ganz einfach als teilweise gespaltene Geißelbüschel, sowie man sie an den lebenden Spirillen sehr häufig zu sehen bekommt. Was die Querbänderung der Geißeln anbelangt, von der Bütschli spricht, so könnte dieselbe möglicherweise als durch Uebereinanderlagerung oder Nebeneinanderlagerung von in verschiedener Weise geschlängelten Einzelgeißeln entstanden aufgefaßt werden. Doch läßt sich darüber nichts Bestimmtes sagen.

4. Das Entfalten der Geißelzöpfe und ihre Ursachen.

Aus den oben beschriebenen Beobachtungen des Entfaltens der Geißeln geht hervor, daß bei den in Bewegung befindlichen Spirillen die Einzelgeißeln im allgemeinen zusammenhaften und dickere Stränge, sogenannte Zöpfe, bilden. Beim Abtöten tritt also unter Umständen ein Entfalten der Geißeln ein. Doch kommt es dabei darauf an, ob das Absterben der Bakterien allmählich oder plötzlich erfolgt. Im ersteren Falle kommt es wohl stets zu einer mehr oder minder starken Entfaltung. Im letzteren Falle spielt das Medium, in welchem sich die Bakterien befinden, eine wesentliche Rolle, wie die folgenden Versuche lehren:

Versuch I. Von der Oberfläche einer 24 Stunden alten Agarkultur wurden die Spirillen in einem großen Tropfen destillierten Wassers verteilt, so daß dasselbe nur wenig milchig getrübt erschien. Untersucht zeigten sich die Spirillen allgemein in reger Bewegung, von den Geißeln war aber nichts zu sehen.

Versuch II. Ein kleiner Tropfen von dieser Aufschwemmung wurde in einem größeren Tropfen einer 5-proz. Hämateinlösung verteilt. Die Spirillen erscheinen getötet und zumeist mit einer dicken Geißel an einem oder an beiden Polen. Manchmal sind 2—3 Geißeln an einem Pole, selten ihrer mehr zu sehen. (Die Hämateinlösung von 5-proz. Konzentration bewirkt, wie später noch ausführlich angegeben werden wird, eine außerordentlich ausgiebige Färbung der Geißeln sämtlicher Bakterienarten.

Es werden durch sie auch die zartesten Einzelgeißeln von Spirillum volutans zur Darstellung gebracht[1].)

Bezüglich des Verhaltens der Geißeln im destillierten Wasser herrscht allgemein die Ansicht [Migula (8, p. 106)], daß dieselben darin aufquellen und sich schließlich ganz auflösen. Ich konnte diese Annahme niemals bestätigt finden. Vielmehr ließen sich die Geißeln selbst nach 24-stündigem Verweilen im destillierten Wasser in unveränderter Gestalt durch Färbung zur Darstellung bringen. Als Ursachen für die als Verquellungen angeführten Erscheinungen dürften vielmehr die Vorgänge beim Eintrocknen und Fixieren der Geißeln in Betracht kommen.

Versuch III. Zur Aufschwemmung der Spirillen im destillierten Wasser wird ein kleiner Tropfen einer 1-proz. Osmiumsäurelösung hinzugefügt und darin verteilt. Alle Spirillen erscheinen getötet, Geißeln sind nicht wahrzunehmen.

Versuch IV. Von dieser Aufschwemmung wird eine kleine Menge mit 5-proz. Hämateinlösung vermischt. Die Geißelzöpfe erscheinen in der überwiegenden Mehrzahl zu Garben[2]) entfaltet mit oft 15—20 feinen Fäden an einem Pole. Vereinzelt sieht man auch dickere Stränge, die aber stets noch von einigen dünneren Fäden umgeben sind.

Der Osmiumsäurezusatz bewirkt also neben der Abtötung der Spirillen ein Entfalten der Geißelbüschel, jedoch keine Darstellung (Sichtbarmachung) derselben.

Versuch V. Bringt man die Spirillen direkt von der Agaroberfläche in 1-proz. Osmiumsäure, so werden sie abgetötet, die Geißeln bleiben aber ebenfalls unsichtbar.

Versuch VI. Ueberträgt man die Spirillen von der Aufschwemmung V in Hämateïnlösung, so treten die Geißeln an jedem Individuum in größerer Anzahl in Garben in Erscheinung.

Es gilt also ganz allgemein, daß die Osmiumsäure, welche die Bakterien augenblicklich abtötet, in Lösung bis zu 1-proz. Konzentration die Geißeln nicht zur Darstellung bringt, daß sie aber stets ein Entfalten der Geißelzöpfe bewirkt.

Versuch VII. Werden die Spirillen von der Agaroberfläche in 5-proz. Hämateïnlösung gebracht, so werden sie darin augenblicklich abgetötet. Man sieht durchweg an jedem Spirillum einen dicken Geißelstrang, selten sind 2—3 dünnere Geißeln wahrzunehmen. Die Spirillen erscheinen zu Haufen zusammengeballt und es ist unmöglich, eine gleichmäßige Verteilung zu erzielen.

Die Hämateïnlösung tötet die Spirillen zwar ab, bewirkt aber kein Entfalten der Geißeln.

Um andere Substanzen auf ihre geißelentfaltende Wirkung zu untersuchen, muß man die Spirillen aus den Lösungen dieser Substanzen in Hämateïnlösung übertragen. Die letztere bewirkt, wie schon erwähnt, eine ausgiebige Färbung selbst der feinsten Geißelfäden und nur auf diese Weise erhält man die Gewähr dafür, daß auch alle vorhandenen Geißeln in Erscheinung treten. Es wurden zunächst Elektrolyte in Betracht gezogen. Von diesen geben aber viele mit Hämateïn Ausfällungen, andere wandeln es in nicht färbende Verbindungen um. Aus einer großen Zahl von Elektrolyten ließen sich nur die folgenden vier ausscheiden, die sich gegen Hämateïn indifferent verhalten: $MgSO_4$, $CdSO_4$, $CdCl_2$ und $Co(NO_3)_2$.

Versuch VIII. Bringt man in eine dieser Lösungen von 1—10-proz. Konzentration Spirillen direkt von der Agaroberfläche, so beobachtet man so ziemlich an allen Individuen 1—3 dicke, mitunter bis zu 5 feinere Geißeln.

Versuch IX. Die Erscheinung bleibt genau die gleiche, wenn man den Lösungen Osmiumsäure zusetzt und dann die Spirillen hineinbringt.

---

[1] Dieser sowie die sämtlichen noch weiterhin beschriebenen Versuche, bei denen Hämatein zur Färbung der Geißeln in Anwendung kam, wurden nach der Vorschrift ausgeführt, die in dem Abschnitt V, 2 über das Abreißen der Geißeln angegeben ist.

[2] Als Garben mögen in Zukunft immer die vollständig entfalteten Geißelbüschel bezeichnet werden, bei denen gegen 20 feine Fäden an einem Pole in Erscheinung treten.

Versuch X. Färbt man Geißeln der nach VIII und IX behandelten Spirillen nachträglich durch Zusatz von Hämateïn, so treten an den einzelnen Individuen nur teilweise noch mehr Geißeln hervor. Man kann hierbei zweckmäßig derart verfahren, daß man die nach VIII oder IX angefertigten nicht oder nur teilweise umrandeten Präparate allmählich austrocknen läßt und dann bei Beginn des Lufteintrittes an einem der Ränder Hämatein zufließen läßt. In den mittleren Partieen des Präparates und vor allem an den der Einflußseite gegenüberliegenden Stellen finden fast gar keine Strömungen statt, so daß die Spirillen ruhig an ihrem Orte verharren. Man kann so den Färbevorgang an ein und demselben Individuum verfolgen. Man beobachtet dabei, daß an Spirillen, bei denen man vorher 1—3 dicke Geißeln sah, meist keine weiteren Geißeln mehr hinzukommen, höchstens hier und da noch 1—2 äußerst feine Fäden. Bei Spirillen, die ungefähr 5 Geißeln erkennen ließen, kommen meist noch einige weitere zum Vorschein. An den in geringerer Zahl vorhandenen Individuen aber, die geißellos erschienen waren, treten Garben auf, die mitunter bis zu 15 Geißeln enthalten. Derartige Spirillen mit zahlreichen Geißeln kommen um so häufiger vor, je geringer die Konzentration der Lösung ist.

Man erhält ein entsprechendes Ergebnis, wenn man die Spirillen aus der Salzlösung in die Hämateïnlösung überträgt, nur kann man in diesem Falle natürlich nicht die Vorgänge an einem und demselben Individuum verfolgen.

Versuch XI. Geht man zu Lösungen von immer geringerem Gehalte über, z. B. von 0,1—0,05-proz. Konzentration, so vermag man dann nur noch an einer Minderzahl der Spirillen zarte Geißeln je 1—3 an einem Pole zu erkennen und beim Färben mit Hämateïn treten entsprechend häufiger die Garben auf, bis man dann zu einer Konzentration gelangt, bei der ungefärbt gar keine Geißeln mehr zu sehen sind, indessen nach Behandlung mit Hämatein bei der Mehrzahl der Spirillen Garben auftreten.

Derartig verlaufen die Erscheinungen aber nur bei drei der angegebenen Substanzen, nämlich bei denjenigen, die auch schon in der geringsten der verwendeten Konzentrationen die Spirillen abtöten. In Magnesiumsulfatlösungen ist letzteres nicht der Fall, daher zeigen die Vorgänge hier ein etwas anderes Bild: mit zunehmender Verdünnung nimmt hier auch die Beweglichkeit der Spirillen zu. Im ungefärbten Zustande sieht man dann an den rasch beweglichen Individuen eine dicke Geißel, bei den nur träge Bewegungen vollführenden Bakterien, die kaum von der Stelle kommen, gewahrt sich oft 2—3 Geißeln. Nach dem Hämateïnzusatz beobachtet man an den Spirillen, die man in Bewegung befanden, ebenfalls entsprechend nur 1 bezw. 2—3 Geißeln.

An den am Objektträger ausgeschiedenen toten Spirillen aber, die vorher geißellos erschienen waren, treten die Garben auf. Auch hier kommt man zu einer Verdünnung, bei der trotz allgemeiner Bewegung der Spirillen die Geißeln nicht mehr wahrzunehmen sind. Beim Färben mit Hämateïn erscheinen dann allgemein die nicht entfalteten dicken Stränge.

Versuch XII. Bringt man die Spirillen nicht direkt von der Agaroberfläche in die auf ihre Wirkung zu untersuchende Lösung, sondern verteilt man sie erst im destillierten Wasser und überträgt sie dann in die Lösung, so tritt im allgemeinen ein stärkeres Entfalten der Geißeln zutage. Dies ist auch erklärlich, da die Spirillen im destillierten Wasser ihre Bewegungen schon teilweise etwas verlangsamen.

Versuch XIII. Bringt man die von der Agaroberfäche entnommenen Spirillen in destilliertes Wasser, dem etwas Osmiumsäure zugesetzt wurde, so werden sie, wie dies in III und IV angeführt worden ist, sofort abgetötet und entfalten dabei die Geißeln. Ueberträgt man die Spirillen hierauf in einige der obigen unter VIII erwähnten Lösungen, so erscheinen selbst bei stärkerer Konzentration derselben (5—10-proz.) ungefärbt, wie nach Hämateïnfärbung allgemein mehr Geißeln an den einzelnen Individuen, als beim direkten Uebertragen der Spirillen von der Agaroberfläche in die Lösungen (Versuch VIII—X). Allerdings tritt hierbei bei weitem nicht jene Entfaltung der Geißeln ein, wie man sie nach IV in dem mit Osmiumsäure versetzten destillierten Wasser erhält.

Ungefärbt sieht man 1—5 Geißeln, mit Hämateïn gefärbt, beobachtet man 3—7 Geißeln. Geht man zu Lösungen von geringerer Konzentration (0,5—0,05-proz.) über, so nimmt ungefärbt sowohl die Zahl der Geißeln am einzelnen Individuum, als auch die Zahl der Spirillen, an denen noch Geißeln zu sehen sind, ab. Dagegen tritt beim Färben im selben Maße eine immer stärkere Entfaltung der Geißelbüschel zutage.

Bei Magnesiumsulfat verschwinden ungefärbt die Geißeln schon bei einer verhältnismäßig höheren Konzentration, als dies nach XI beim direkten Uebertragen in die Lösungen der Fall war. Dies ist verständlich, da in letzterem Falle die Geißeln zu Zöpfen verflochten waren, während sie im ersteren ziemlich vollständig entfaltet wurden.

Versuch XIV. Werden die Spirillen direkt von der Agaroberfläche in Zuckerlösungen gebracht, so sind die Geißeln nur bei stärkeren Konzentrationen wahrzunehmen. Am ehesten ist es noch der Fall bei Traubenzucker, hier kommen die Geißeln schon bei einer 4-proz. Lösung vereinzelt an den lebenden Individuen zum Vorschein, bei Rohr- und Milchzucker tritt dies aber erst in 10-proz. Lösungen ein. Die Spirillen sind vereinzet selbst noch in 20-proz. Lösungen lebend und in schwacher Bewegung. Die Geißeln sind dort zumeist, stets aber an den lebenden Individuen zu sehen. Lebhaftere Geradeausbewegung ist aber erst in Lösungen von 2-proz. Konzentration abwärts zu beobachten, in denen aber von den Geißeln nichts mehr wahrzunehmen ist.

Versuch XV. Bringt man die Bakterien aus einer Aufschwemmung in destilliertem Wasser mit Osmiumsäurezusatz in eine der Zuckerlösungen, so kommen auch in 20-proz. Milch- und Rohrzuckerlösung keine Geißeln zur Darstellung. In 20-proz. Traubenzuckerlösung treten die Geißeln nur sehr selten hervor und dann äußerst dünn, 1—2 an der Zahl, mitunter kommen sie nach einiger Zeit durch kleine Pünktchen angedeutet in Garben bis zur 5-Zahl an einem Individuum zum Vorschein.

Versuch XVI. Behandelt man die Spirillen, nachdem man sie in die Zuckerlösungen gebracht hat, mit Hämateïn, so ist folgendes zu beobachten: Wurde nach XIV, also ohne Osmiumzusatz verfahren, so erscheinen bei Lösungen geringerer Konzentration (2-proz. oder weniger), in welchen die Bakterien lebhaft beweglich sind, durchwegs die dicken Stränge, 1—2 an der Zahl, in Lösungen stärkerer Konzentration dagegen (10—20-proz.), kommen dicke Stränge nur selten vor, die Geißelbüschel sind zum großen Teil in Garben bis zu 15 Geißeln entfaltet oder sie befinden sich im Zustande beginnender Entfaltung.

Versuch XVII. Im zweiten Falle aber (XV) nach vorheriger Abtötung der Spirillen durch Osmiumsäure, erhält man bei Lösungen der verschiedensten Konzentration dasselbe Bild, nämlich die Geißelbüschel im Zustande völliger Entfaltung, in derselben Weise, als wären die Spirillen gar nicht in die Zuckerlösungen übertragen, sondern gleich aus den mit Osmiumsäure versetzten Aufschwemmungen mit Hämateïn gefärbt worden.

Erwähnt sei hier noch die folgende, schon früher angeführte Erscheinung:

Versuch XVIII. Bringt man einen kleinen Tropfen aus dem Kondenswasser einer Spirillenkultur oder aus einer Bouillonkultur derart zwischen Objektträger und Deckglas, daß nur eine äußerst dünne Flüssigkeitsschicht entsteht, so sieht man an den in Vorwärtsbewegung befindlichen Spirillen zunächst stets nur je eine dicke Geißel. Bei beginnender Austrocknung des Präparates werden die Spirillen am Objektträger ausgeschieden und wirbeln nur mehr mit den Geißeln herum. Diese fangen plötzlich an, sich der Länge nach zu teilen und in dünnere Fäden zu entfalten. An einzelnen Spirillen kann man so bis zu 15 äußerst zarte Einzelgeißeln an einem Pol wahrnehmen.

Aus den Versuchsreihen I—XVIII ist das folgende zu entnehmen: Die Spirillen vereinigen bei lebhafter Vorwärtsbewegung, gleichgültig in welchem Medium sie sich befinden, die Einzelfäden ihrer Geißelbüschel zu dicken Strängen, den sogenannten Zöpfen. Arbeiten die Geißeln vor dem allmählichen Absterben nur mehr ganz langsam, so daß der Körper nur wenig mehr bewegt wird, und schließlich ganz zur Ruhe kommt, dann beginnen die Geißelbüschel sich mehr oder weniger vollständig zu Garben zu entfalten.

Werden die Spirillen, die in einem beliebigen indifferenten Medium aufgeschwemmt sind, aber plötzlich abgetötet, z. B. durch Hinzufügen von Spuren einer Substanz zur Aufschwemmung, die schon in ganz geringer Menge abtötend wirkt, oder werden sie an und für sich in ein abtötendes Medium gebracht, so hängt das Entfalten der Geißeln wesentlich von der Natur des Aufschwemmungsmediums und von der Konzentration der in ihm gelösten Substanzen ab.

Im destillierten Wasser tritt jederzeit völlige Entfaltung ein[1]), in Nicht-Elektrolytlösungen im allgemeinen noch bei ziemlich starker Konzentration (20-proz.), in Elektrolytlösungen dagegen findet sie nur in Lösungen von geringer Konzentration (0,1—0,01-proz. oder weniger) vollständig statt, mit zunehmender Konzentration jedoch nur teilweise und schließlich gar nicht mehr. Ja es kommt in Elektrolytlösungen von verhältnismäßig stärkerer Konzentration (5—10-proz.) sogar, nachdem die Geißeln vorher im destillierten Wasser vollständig zur Entfaltung gebracht worden waren, ein teilweises Wiederzusammenlegen der Geißeln eines Büschels zustande, das allerdings durch mechanische Einflüsse, z. B. durch Strömungen beim Uebertragen der Bakterien, wesentlich gefördert werden dürfte.

---

[1]) Daraus erklärt es sich auch, daß A. Fischer (11, p. 120), nachdem er das Aufschwemmungsmedium der Bakterien sehr stark verdünnt hatte, keine Zöpfe mehr nachweisen konnte, während sie in der unverdünnten Flüssigkeit in großer Zahl aufgetreten waren. Die Zöpfe waren also nicht der Auflösung oder Aufquellung, wie Fischer annimmt, anheimgefallen.

Bei Osmiumsäure, die unter den Elektrolyten eine gewisse Sonderstellung einzunehmen scheint, dürfte die Entfaltung der Geißeln in stärkerer Konzentration wahrscheinlich auch verhindert werden, so daß bei ihr bloß ein Zurückbleiben der Wirkung gegenüber anderen Elektrolyten zu verzeichnen wäre.

Diese Vorgänge dürften wahrscheinlich mit dem elektrischen Zustande der Medien und der Beeinflussung desselben beim Einbringen der Bakterien in Zusammenhang zu bringen sein. Darauf lassen vor allem die im folgenden Abschnitte beschriebenen Versuche schließen. Aus denselben ergibt sich nämlich die bemerkenswerte Tatsache, daß bei abgetöteten Bakterien das Geißeldarstellungsvermögen der verschiedenen Substanzen fast stets gleichsinnig verläuft mit einer Begünstigung der Zopfbildung.

Obwohl kein Zweifel darüber bestehen kann, daß der Zopfbildung bei der Sichtbarmachung der Geißeln im Dunkelfelde eine wesentliche Bedeutung zukommt, so ist sie dennoch nicht allein dafür ausschlaggebend. Es muß, um das letztere zu bewirken, vielmehr noch ein anderer Umstand hinzutreten. Denn wie aus den Versuchen II und XVI hervorgeht, sind auch im destillierten Wasser und in Zuckerlösungen an den lebenden Bakterien die Geißeln zu Zöpfen verflochten, und dennoch kommen in diesem Falle die Geißeln nicht zur Darstellung.

5. Weitere Versuche zur Aufklärung der Geißeldarstellung.

Um nun genau feststellen zu können, welche anderen Umstände bei der Sichtbarmachung der Geißeln noch in Betracht kommen könnten, wurde eine Reihe systematischer Versuche mit einer größeren Zahl von Lösungen verschiedener Elektrolyte und Nichtelektrolyte unternommen. Bei der Durchführung der Versuche waren die folgenden Erwägungen maßgebend: Die Untersuchung am abgetöteten, an derselben Stelle verharrenden Objekte, war derjenigen an den lebenden, rasch hin und herschießenden und daher schwieriger zu beobachtenden Bakterien vorzuziehen. Die Spirillen wurden daher, bevor sie in die bezüglich ihrer Wirkung zu untersuchende Lösung kamen, durch Behandlung mit Osmiumsäuredämpfen abgetötet. Der direkte Zusatz von Osmiumsäure zur Spirillenaufschwemmung wurde vermieden, um die Einwirkung der Osmiumsäure auf die in Lösung befindlichen Substanzen möglichst hintanzuhalten.

Technische Bemerkungen.

Es wurden nur sorgfältigst in der im Abschnitte II angegebenen Weise gereinigte Objektträger und Deckgläser zur Anwendung gebracht. Gewöhnliche käufliche Objektträger wurden als Hilfsobjektträger zum Aufbringen der Bakterienaufschwemmung und solche mit feingeschliffenen Oberflächen als Untersuchungsobjektträger zum Anfertigen der Präparate verwendet. Zunächst wurden zwei Hilfsobjektträger bereitgehalten; auf den einen wurde ein kleiner, auf den anderen ein großer Tropfen destillierten Wassers aufgetragen. Die Spirillen von der Oberfläche einer weniger als 24 Stunden alten Agarkultur wurden unter möglichster Vermeidung der Mitnahme irgendwelcher Nährbodenbestandteile ganz dicht in dem kleinen Tropfen verteilt. Von diesem wurde eine Spur in den größeren Tropfen übertragen und darin gleichmäßig aufgeschwemmt, so daß eine schwach milchige Trübung entstand. Dieses

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nochmalige Uebertragen wurde zu dem Zwecke durchgeführt, um eine möglichst gleichmäßige Verteilung der Bakterien zu erreichen, sowie um das Einbringen irgendwelcher von der Agarfläche stammender Stoffe zu vermeiden. Der größere Aufschwemmungstropfen wurde hierauf 2 Minuten lang der Einwirkung von Osmiumsäuredämpfen überlassen, und zwar derart, daß der Objektträger-Tropfen nach unten über ein geöffnetes Fläschchen mit 1-proz. Osmiumsäure gelegt wurde (s. Fig. 4). Auf einen Untersuchungsobjektträger wurde dann ein Tropfen der zu untersuchenden Lösung gebracht, in diesen eine Spur von der Bakterienaufschwemmung verteilt, aber so, daß die Platinöse, mit der die Uebertragung stattfand, stets nur an der Oberfläche des Tropfens blieb, ohne an den Objektträger selbst anzukommen. Diese Verteilung wurde hierauf mit einem möglichst kleinen Deckglase zugedeckt, so daß die Flüssigkeitsschicht immerhin eine gewisse Mächtigkeit besaß, und die Bakterien in dieser Schicht frei schwimmen konnten. Der Vorteil der zuletzt erwähnten Maßnahme hatte sich aus den im Abschnitt V. 3. über das Abreißen der Geißeln beschriebenen Versuchen dargetan, denn es hatte sich erwiesen, daß die Geißeln besonders dann leicht abreißen, wenn die toten Bakterien zu Boden sinken und noch Flüssigkeit über sie hinwegströmt.

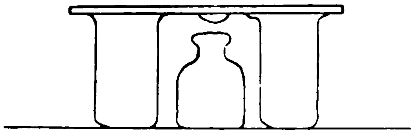


Fig. 4.

Es wurden entweder kreisrunde Deckgläser von 1 cm Durchmesser verwendet oder Teilstücke von 16—18 mm quadratischen Deckgläsern.

In der zu untersuchenden Lösung konnte man dann im allgemeinen bei verhältnismäßig stärkerer Konzentration (z. B. 5-proz.) die Geißeln bei allen oder bei der überwiegenden Mehrzahl der Spirillen in der Zahl 1—3, oft bis zu 5 an einem Pole sehen[1]). Wurden Lösungen von geringerer Konzentration angewendet, so nahm mit der zunehmenden Verdünnung die Zahl der Spirillen, an denen Geißeln zu sehen waren, sowie auch die Zahl der Geißeln an den einzelnen Spirillen ständig ab, bis bei einer bestimmten Verdünnung nichts mehr von Geißeln wahrzunehmen war. Die Lösungen wurden im allgemeinen in 10-proz. Konzentration hergestellt, und dann mit der gleichen doppelten, dreifachen usw., 10-, 20-fachen usw., 100-fachen usw. Menge destillierten Wassers verdünnt und jedesmal in Untersuchung gezogen. Gelangte man dann an den Punkt, an welchem keine Geißeln mehr in Erscheinung traten, so wurde nochmals die Lösung von der nächst- und zweithöheren Konzentration untersucht, bis die Geißeln wieder vereinzelt auftraten, hierauf nochmals der Kontrolle halber die nächstniedrigere Lösung zur Anwendung gebracht und auf Wahrnehmbarkeit der Geißeln geprüft.

Diejenige der Grenzkonzentrationen, bei welcher bei wiederholten Versuchen in übereinstimmender Weise die Geißeln nicht zu sehen waren, wurde als „untere Grenze der Sichtbarmachung der Geißeln" bezeichnet. Auch bei späteren Kontrollversuchen wurden dieselben oder doch nahezu dieselben Werte für die unteren Grenzkonzentrationen gefunden. Doch sei darauf hingewiesen, daß immerhin gewisse Schwankungen festzustellen waren. Wie bei allen Fällungsversuchen mit Eiweißsubstanzen, so können auch hier die Werte keinen Anspruch auf absolute Genauigkeit machen, sondern sie sollen vielmehr dazu dienen, die Größenordnung festzustellen, innerhalb deren sich die Erscheinungen abspielen.

In der folgenden Tabelle III sind die unteren Grenzen der Konzentrationen für die in Anwendung gebrachten Lösungen in zweierlei

---

1) Diese Konzentrationsangabe gilt natürlich vor allem nur für vollkommen neutral reagierende Salzlösungen, so z. B. von NaCl, KCl usw. Enthalten die Lösungen aber freie Säure, dann treten die Geißeln stets erst bei viel geringerer Konzentration hervor: so in $Al_2(SO_4)_3$-Lösung erst bei 0,025 Proz., in $AuCl_3$ bei 0,33 Proz., in Oxalsäure bei 0,025 Proz., in HNO_3 und in As_2O_3 bei 0,01-proz. Konzentration.

Tabelle III.

Substanz	Aequivalentgewicht	Untere Grenze der Geißeldarstellung		Molekulares Geißeldarstellungsvermögen x 10
		Abs. Konzentration (Anzahl der Gramm in 100 ccm Aqua dest.)	Konzentration in Milligramm-Aequivalenten im Liter x 10^6	
NaOH	40,1	—	—	0
KOH	56,2	—	—	0
KJ	166,0	1,25	75 300	133
KBr	119,1	0,075	6 300	1 587
KCl	74,6	0,05	6 700	1 493
NaCl	58,5	0,05	8 550	1 170
$BaCl_2$ + 2 aq	122,1	0,025	2 050	4 878
$CaCl_2$	55,5	0,0125	2 250	4 444
Al_2Cl_6 + 12 aq	44,5	0,001	220	45 454
Fe_2Cl_6	54,1	0,001	180	55 556
$CdCl_2$	109,7	0,01	911	10 977
$CuCl_2$ + 2 aq	85,3	0,005	590	16 949
$HgCl_2$	135,6	0,0083	610	16 393
$AuCl_3$	113,2	0,0033	290	34 483
$PtCl_4$	106,7	0,01	930	10 753
HCl	36,5	0,00018	49	202 778
K_2SO_4	87,2	0,01	1 200	8 333
Na_2SO_4 + 10 aq	161,2	0,05	3 100	3 226
$CaSO_4$ + 2 aq	86,05	0,0084	980	10 204
$MgSO_4$	123,3	0,02	1 600	6 250
$Al_2(SO_4)_3$ + 18 aq	111,1	0,001	90	111 111
$Cr_2(SO_4)_3$ + 18 aq	119,45	0,0083	690	14 493
$ZnSO_4$ + 7 aq	143,8	0,017	1 180	8 475
$MnSO_4$ + 7 aq	138,6	0,0083	598	16 722
$FeSO_4$ + 7 aq	139,1	0,0125	898	11 136
$FeSO_4(NH_4)_2SO_4$ + 6 aq	97,9	0,0017	174	57 471
$NiSO_4$ + 7 aq	140,5	0,005	360	27 778
$CuSO_4$ + 6 aq	124,85	0,008	640	15 625
$K_2SO_4 + Al_2(SO_4)_3$ + 24aq	118,65	0,001	94	106 892
H_2SO_4	49.0	0,0002	40	250 000
KNO_3	101,2	0,033	3 270	3 058
$NaNO_3$	85,1	0,083	9 750	1 026
$Co(NO_3)_2$ + 6 aq	145,6	0,02	1 370	7 299
$UO_2(NO_3)_2$ + 6 aq	251,85	0,0025	99	101 010
HNO_3	63,1	0,00049	78	128 571
K_2CO_3	69,15	0,1	10 450	957
Na_2CO_3 + 10 aq	143,15	0,3	20 970	477
$(NH_4)_2CO_3$ + aq	57,1	0,0625	10 940	914
Li_2CO_3	37,1	0,085	22 940	436
KH_2PO_4	45,40	0,025	5 507	1 816
Na_3PO_4 + 12 aq	126,8	0,05	4 000	2 500
Na_2HPO_4 + 12 aq	119,5	0,0208	1 790	5 587
K_2CrO_4	97,2	0,033	3 400	2 941
K_4FeCy_6	105,5	0,02	1 890	5 291
K_3FeCy_6	109,9	0,025	2 280	4 986
As_2O_3	33,0	0,0025	760	13 158
$C_2H_3O_2Na$	136,1	0,071	5 222	1 915
$UO_2(C_2H_3O_2)_2$ + 2 aq	212,8	0,0083	390	25 641
$C_2H_4O_2$ (Essigsäure)	60,0	0,05	8 300	1 520
Weinsaures K	113,15	0,083	7 300	1 370
Weinsäure	75,0	0,005	670	14 925
Oxalsäure	63,05	0,00625	990	10 101
Zitronensäure	70,0	0,001	143	70 000
Digallussäure (Tannin)	322,1	0,02	620	16 129

Substanz	Aequivalentgewicht	Untere Grenze der Geißeldarstellung		Molekulares Geißeldarstellungsvermögen x 10
		Abs. Konzentration (Anzahl der Gramm in 100 ccm Aqua dest.)	Konzentration in Milligramm-Aequivalenten im Liter x 10^6	
Methylalkohol	32,0	3,2	1 000 000	10
Aethylalkohol	46,1	0,56	121 474	82
Formaldehyd	30,0	0,5	167 000	60
Acetaldehyd	44,0	0,88	200 000	50
Pyrogallol	126,1	1,0	79 300	126
Hämateïn	228,0	0,0133	581	17 212
Traubenzucker	180,1	10,00	555 247	18
Rohrzucker	332,1	20,00+	602 228+	— 17
Milchzucker	360,2	20,00+	555 247+	— 18
Gelatine	—	0,25	—	—
Agar-Agar	—	0,067	—	—

Weise angegeben: In Reihe 2 als absolute Konzentration (Anzahl der Gramme in 100 ccm destillierten Wassers, in Reihe 3 in Milligramm-Aequivalenten im Liter Wasser. In Reihe 4 sind die reziproken Werte der in Reihe 3 angeführten Zahlen angegeben, die als „molekulares Geißeldarstellungsvermögen“ bezeichnet werden sollen.

Aus der Tabelle III ist folgendes zu entnehmen:

1) Die Darstellung der Geißeln tritt erst oberhalb einer gewissen für jede Substanz charakteristischen Konzentration ein.

2) Die Nichtelektrolyte, wie Zuckerarten, Alkohole, Aldehyde und Kolloide, zeigen bezüglich der Geißeldarstellung eine verhältnismäßig schwache Wirkung.

3) Von den Elektrolyten bewirken die kaustischen Alkalien, so KOH und NaOH, keinerlei Geißeldarstellung, sehr intensiv wirken dagegen Salze und Säuren.

4) Bei verschiedenen Salzen ein und derselben Säure läßt sich durchweg eine Steigerung der Wirkung mit zunehmender Wertigkeit des Kations feststellen, während die Säure selbst an Wirkung alle ihre Salze übertrifft[1]).

---

[1]) Bezüglich der Einwirkung der freien Säuren auf die Geißeln, sei dies nun in ihren verdünnten Lösungen oder als hydrolytisch abgespaltene Säure in den Lösungen der Salze schwacher Basen, wie essigsaure Tonerde, Aluminiumsulfat, Alaun, Chromisulfat, Eisenoxydulammonsulfat, Eisenchlorid, Aluminiumchlorid, Goldchlorid, Platinchlorid, Kupferchlorid usw., sei bemerkt, daß in diesen sauren Lösungen neben einer ausgiebigen Beizwirkung stets eine gewisse Struktur der Geißeln hervortritt. In gewissen optimalen Konzentrationen, so bei 0,025-proz. $Al_2(SO_4)_3$, in 0,1-proz. $FeCl_3$, in 0,025-proz. Oxalsäure, in 0,01-proz. HNO_3 kommen die Garben mit 5—7 Geißeln zum Vorschein. Die Geißeln erscheinen wie von kleinen Körnchen oder Kügelchen besetzt, welche sich (s. Fig. 5a) perlschnurartig aneinanderreihen. In jeder anderen Konzentration ist die Geißeldarstellung eine minder ausgiebige: in verdünnteren Lösungen sind weniger Geißeln zu sehen und die Körnchen verschwinden allmählich, in Lösungen stärkerer Konzentration werden die Geißeln allmählich zersetzt. Sofort nach dem Einbringen der Bakterien in eine stärker konzentrierte Lösung beginnen die Geißeln sich zu verkürzen, die Knöpfchen rücken näher (s. Fig. 5b und c) aneinander, vereinigen sich zu einem einzigen Knopfe an der Geißelspitze, der beim Verkürzen der Geißel mehr und

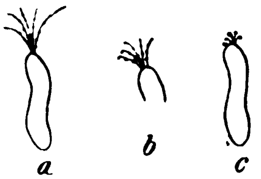


Fig. 5.

5) **Zieht man dagegen Salze mit gleichem Kation in Betracht oder vergleicht man die Wirkung der Säuren selbst, so erkennt man, daß dieselbe bei beiden Arten von Elektrolyten ungefähr um so intensiver ist, je stärker die betreffende Säure bezw. je größer deren Dissoziationskonstante ist, und zwar kommt man zu der folgenden nach abnehmender Wirkung geordneten Reihe: Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Zitronensäure, Oxalsäure, Essigsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure.**

Diese gefundenen Gesetzmäßigkeiten ermöglichen es, einen Anhaltspunkt für die in Betracht kommenden Verhältnisse zu gewinnen. Es zeigt sich nämlich hierin eine gewisse Analogie mit den Ergebnissen, die bei den Versuchen über die Ausfällung von Kolloidlösungen und Suspensionen durch Elektrolyte erhalten wurden und die in der Fällungsregel ihren Ausdruck finden.

Die Fällungsregel besagt nach A. Müller (19) das Folgende:

1) Damit eine Ausfällung des Hydrosols bezw. der Suspension eintritt, muß die Konzentration des die Fällung bewirkenden Elektrolyten einen gewissen Schwellwert übersteigen. Unterhalb dieses Schwellwertes tritt auch bei lang andauernder Einwirkung keine Ausfällung ein.

2) Für das Fällungsvermögen eines Elektrolyten auf ein Hydrosol oder eine Suspension ist entweder nur das Anion oder nur das Kation von ausschlaggebender Bedeutung, je nachdem die Teilchen des Sols (der Suspension) positiv oder negativ elektrisch geladen sind, d. h. je nachdem sie im elektrischen Potenzialgefälle mit oder gegen den Strom wandern.

3) Das Fällungsvermögen nimmt bei Anwendung äquimolekularer Mengen von Elektrolyten mit der Wertigkeit des ausschlaggebenden Ions erheblich zu.

Diese Gesetzmäßigkeiten treten, wie oben hervorgehoben wurde, bis zu einem gewissen Maße auch bei der Geißeldarstellung in Erscheinung.

Zum Vergleiche seien im folgenden die Ergebnisse angeführt, die einige Forscher bei Untersuchungen erhielten, welche die Fällungsregel zum Gegenstand hatten, und zwar diejenigen von Schulze (20) über die Fällungswirkung einer Reihe von Elektrolyten auf Arsensulfidhydrosol, dessen Teilchen negativ elektrisch geladen sind, die von Hardy (21) über die Fällungserscheinungen bei einer negativ geladenen Mastixsuspension, ferner diejenigen, die Bechhold (22) bei ähnlichen Fällungsversuchen mit Agglutininbakterien und gewöhnlichen Bakterien erhielt. Zum Vergleiche seien nochmals die bei den Versuchen über die Geißeldarstellung erhaltenen Ergebnisse aufgeführt. Die Zahlen in den Vertikalreihen 1, 2, 3 und 4 der Tabelle IV stellen das molekulare Fällungsvermögen [nach Müller (19, p. 48)] der betreffenden Substanzen für die Hydrosole bezw. Suspensionen dar, d. h. den reziproken Wert derjenigen Konzentration in g-Molen im Liter, welche erforderlich ist, um die Koagulation hervorzubringen. In Reihe 4 sind die in derselben Weise berechnten Werte für die zur Geißeldarstellung nötigen Konzentrationen angegeben, welche man als molekulares Geißeldarstellungsvermögen bezeichnen könnte.

---

mehr an den Körperpol heranrückt, bis er ihm schließlich ganz ansitzt und dann verschwindet. Eine ähnliche Struktur der Geißeln ist auch beim Färben bezw. Beizen mit den sauren (phenolartigen) Farbstoffen, wie Hämateïn und Brasileïn, ferner mit Digallussäure (Tannin) wahrzunehmen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle IV.

Substanz	Molekulares Fällungsvermögen				Molekulares Geißeldarstellungsvermögen
	auf As_2S_3-Hydrosol x 10^2	auf Mastixsuspension x 10^2	auf Agglutininbakterien x 10^2	auf Bakterien x 10^2	
KOH		0	0	0	0
NaOH		0			0
Essigsäure	2	143	100	100	152
Oxalsäure	410	4 545			1 010
H_3PO_4	85				
KH_2PO_4					182
HNO_3	1 738	25 000			12 857
HCl	2 026	25 000	200	100	20 278
H_2SO_4	1 249	25 000	400	100	25 000
KJ	913				133
NaJ			4	0	
KBr	1 127				159
KCl	1 022				149
NaCl	1 240	833	4	0	117
$BaCl_2$	32 318	3 571	20	0	488
$CaCl_2$	24 250		22	0	444
Al_2Cl_3	369 350				4 545
Fe_2Cl_6	270 500				5 556
$CdCl_2$					1 008
$CuCl_2$			200	40	1 695
$HgCl_2$			200	40	1 639
$PtCl_4$			200	40	1 075
K_2SO_4	663	417			833
Na_2SO_4	918				323
$CaSO_4$	18 921				1 020
$MgSO_4$	15 859	3 571	20	20	625
$Al_2(SO_4)_3$	300 136		400	400	11 111
$K_2SO_4 + Al_2(SO_4)_3$	323 250				10 689
$Fe_2(SO_4)_3$			1000	200	
$Fe(SO_4)$	18 112				1 114
$FeSO_4 + (NH_4)_2SO_4$	8 248				5 747
$ZnSO_4$	26 906		100	10	858
$CdSO_4$			100	10	
$MnSO_4$	21 607				1 672
$NiSO_4$	26 626		100	40	2 778
$CuSO_4$			100	40	1 563
KNO_3	850		4	0	306
$NaNO_3$	996				103
$Co(NO_3)_2$			40		730
$NaC_2H_3O_2$	640				192
K_4FeCy_6	707				529
K_3FeCy_6	890				439

Wie aus Tabelle IV hervorgeht, herrscht keine absolute Uebereinstimmung zwischen den Versuchsergebnissen bei der Geißeldarstellung und denjenigen bei der Fällung von Suspensionen. Es ist dies schließlich nicht verwunderlich in Anbetracht der Verschiedenheit der Untersuchungsobjekte, um so mehr, als ja auch die Resultate der Fällungsversuche voneinander in manchen Punkten abweichen. Immerhin läßt sich im Sinne der Zunahme der Wirkung zum größten Teil eine Uebereinstimmung feststellen.

So weisen ebenso wie bei der Geißeldarstellung auch bei der Ausfällung der negativ geladenen Suspensionen die starken Basen KOH und NaOH keine Wirkung auf.

Die größte Uebereinstimmung mit der Geißeldarstellung zeigen die Versuchsergebnisse Hardys in Reihe 2 über die Fällung einer Mastixsuspension. Es kommt hier vor allem auch der überwiegende Einfluß der Säuren gegenüber den Salzen und die Zunahme der Wirkung mit der Stärke der Säure zum Ausdruck.

Bei den anderen Vergleichsreihen kommen dagegen mehr die Analogieen bezüglich der Zunahme der Wirkung mit der Zunahme der Wertigkeit des Kations zur Geltung.

Auch ließe sich bei der Geißeldarstellung, ähnlich wie dies von Bechhold für die Fällung von Bakteriensuspensionen gefunden wurde, eine Zunahme der Wirkung mit der Abnahme der Zersetzungsspannung der Ionen feststellen. Nach Abegg und Bodländer (23) nimmt die Zersetzungsspannung einiger Kationen in folgender Reihe ab: Na, Mg, Zn, Cd, Co. In derselben Reihenfolge wächst, wie aus Tabelle IV hervorgeht, sowohl die Intensität der Koagulationswirkungen auf Hydrosole, als auch diejenige der Geißeldarstellung.

Aus den oben angeführten Tatsachen ergibt sich also, daß sich bei der Geißeldarstellung wohl ganz ähnliche Vorgänge abspielen dürften, wie bei der Ausfällung von Hydrosolen bezw. Suspensionen durch Elektrolyte. In beiden Fällen sind die elektrischen Verhältnisse von ausschlaggebender Bedeutung.

Die Geißeln zeigen ein Verhalten wie ein negativ geladenes Hydrosol. Dieser Umstand steht im Einklang mit den Versuchen von Bechhold (22, p. 421) über die elektrische Kataphorese von Bakterien, bei denen es sich ergeben hat, daß die Bakterien zur Anode wandern, also negative Ladung besitzen.

Man muß also zu der Annahme kommen, daß die Elektrolyte eine gewisse Zustandsänderung der Geißelsubstanz hervorrufen, die der Ausfällung der Hydrosole bezw. Suspensionen an die Seite zu stellen ist. Möglicherweise handelt es sich auch hier um eine Ausfällung oder Entmischung der das Geißelplasma bildenden Eiweißstoffe.

Zugleich mit dieser Ausfällung müßte aber eine Adsorption des die Ausfällung bewirkenden Elektrolyten bezw. seines Kations von seiten des Geißelplasmas einhergehen. Denn nach den Versuchen von Linder und Picton (25), Whitney und Ober (26) ist es bekannt, daß bei der Ausfällung von Hydrosolen durch Elektrolyte eine teilweise Zersetzung der letzteren eintritt und daß jenes ihrer Ionen vom ausgefällten Gel zurückgehalten wird, welches bei der Ausfällung ausschlaggebend ist. So wurden vom negativ geladenen As_2S_3-Hydrosol die Kationen adsorbiert. Diese Erscheinungen wurden auch durch die Versuche von Freundlich und Losev (27) bestätigt. Bei diesen Versuchen hatte es sich ergeben, daß bei Elektrolyten mit gleichwertigen Kationen ein Parallelismus zwischen Adsorption und Ausfällung eines Hydrosols besteht. Freundlich (28) stellte dann auf Grund seiner Versuchsergebnisse die Hypothese auf, daß die Gesetzmäßigkeiten, die bei der Ausfällung von Hydrosolen und Suspensionen zu erkennen sind, überhaupt auf die dabei stattfindende Adsorption der Elektrolyte bezw. ihrer Ionen durch das ausgefallene Gel zurückzuführen seien.

Bei der Ausfällung von Hydrosolen und der Suspensionen handelt es sich nach Freundlichs Auffassung um eine Neutralisation der Ladung derselben. Ist das Sol z. B. negativ geladen und adsorbiert es z. B. die Kationen stärker als die Anionen eines Elektrolyten, so wird nur eine ganz geringe Menge des letzteren nötig sein, um die Neutralisation hervorzubringen. Umgekehrt, wenn das Anion stärker adsorbiert

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

wird wie das Kation, wird zur Neutralisation eine bedeutend größere Menge des Elektrolyten nötig sein.

Wie dem nun auch sei, so bleibt jedenfalls die Tatsache bestehen, daß Fällung stets mit Adsorption einhergeht. Auf diese Weise wird es sehr wahrscheinlich, daß die Sichtbarmachung der Geißeln auf der Adsorption der Elektrolyten bezw. ihrer Kationen beruht. Diese Annahme erscheint sehr einleuchtend, da die Metalle durchaus ein sehr hohes Brechungsvermögen besitzen. Es läßt sich aber dabei durchaus nicht entscheiden, ob die soeben besprochenen Wirkungen erst von dem Augenblicke an einsetzen, in dem die Geißeln sichtbar werden, da ja die Sichtbarmachung immer nur etwas Relatives ist und von der Intensität der Lichtquelle und der Empfindlichkeit des Auges abhängt.

Auf jeden Fall ist es aber klar, daß dieselbe Einwirkung, die so von seiten der Elektrolyte auf die verhältnismäßig groben Geißeln von Spirillum volutans festgestellt werden konnte, auch bei viel zarteren Geißeln, z. B. bei denjenigen der Bacillen und Sarcinen, stattfinden wird. Daß aber dessenungeachtet bei diesen Arten in Elektrolytlösungen keine Sichtbarmachung der Geißeln eintritt, das hat seinen Grund in der allzu großen Feinheit der letzteren. Infolge dieses Umstandes wird die an den Geißeln abgebeugte Lichtmenge zu gering sein, als daß sie auf der Netzhaut des Auges eine genügend starke Erregung hervorbringen könnte, durch welche ein Lichteindruck entsteht. Tritt aber in zähflüssigen Medien (in organischen Kolloidlösungen) eine Zopfbildung ein, werden die Geißeln also dicker, dann kommen in Gegenwart von Elektrolyten auch hier die Geißeln zum Vorschein.

Im Anschluß an die vorausgegangenen Darlegungen läßt sich nunmehr leicht eine Erklärung dafür finden, daß Natur und Konzentration der in den Aufschwemmungsflüssigkeiten gelösten Substanzen auf das Entfalten der Geißeln einen so wesentlichen Einfluß ausüben. Die hier in Betracht kommenden Erscheinungen wurden schon im Vorhergehenden beschrieben. Es hatte sich, wie dort angegeben ist, gezeigt, daß das Entfalten der Geißelzöpfe im allgemeinen beim Absterben der Spirillen eintritt. Werden die Spirillen plötzlich abgetötet, so entfalten sich die Geißelzöpfe um so vollständiger, je geringer die Menge der im Aufschwemmungsmedium gelösten Elektrolyte ist. Man kann wohl annehmen, daß hierbei die gleichen Umstände maßgebend sind, wie bei der Sichtbarmachung der Geißeln, bezw. wie bei der Fällung von Hydrosolen und Suspensionen durch Elektrolyte. Aus den Untersuchungen von Bechhold (22, p. 421) geht hervor, daß die Bakterien und demgemäß auch die Geißeln in wässerigen elektrolytfreien Aufschwemmungen eine gewisse elektrische Ladung gegenüber dem umgebenden Medium besitzen. Infolge des gleichen Ladungssinnes der Einzelgeißeln eines Büschels bestreben sie sich, voneinander zu entfernen, sich zu entfalten. Die Elektrolyte bewirken nun eine Aenderung des elektrischen Zustandes, eine Neutralisation desselben, so daß die Geißeln nur mehr der Einwirkung der Oberflächenspannung gegen das umgebende Medium unterworfen sind, derzufolge sie ihre Oberfläche zu verringern suchen. Sie werden also zusammenflocken, sich zu Zöpfen vereinigen, in derselben Weise wie die Bakterien in Elektrolytlösungen nach den Untersuchungen von Bechhold zusammenflocken. Tatsächlich kann man auch in verdünnten Säuren und in sauer reagierenden Salzlösungen ein Zusammenballen der Bakterien beobachten, so daß es oft unmöglich ist, in diesen Lösungen eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien zu erzielen. Vielleicht ist auch die Bildung von enorm dicken Geißelzöpfen, so wie sie Loeffler (16) und Sacharoff (17) beschrieben haben, auf eine Art Zusammenflockung der abgerissenen Geißeln zurückzuführen.

Es ergeben sich jetzt einige Gesichtspunkte über die Möglichkeit einer allgemeinen Darstellung der Geißeln lebender Bakterien bei Dunkelfeldbeleuchtung. Zur Sichtbarmachung der Geißeln haben sich, wie schon erwähnt, bis jetzt ganz allgemein gewisse Nährlösungen, so vor allem Nährgelatine und Agarkondenswasser, am besten bewährt. Ihre Wirkung muß nach den soeben gemachten Ausführungen hauptsächlich auf die in Lösung befindlichen Elektrolyte zurückgeführt werden. Die kolloidalen Substanzen, welche sie enthalten, spielen dagegen bezüglich der Geißeldarstellung nur bei Bakterien eine Rolle, welche Geißelbüschel besitzen, oder bei denen jedes einzelne Individuum stets eine Mehrzahl von Geißeln ausbildet. In diesem Falle befördern die Kolloide durch Erhöhung der Viskosität des Mediums das Zusammenhaften der Geißeln und die so gebildeten Zöpfe werden naturgemäß leichter wahrgenommen, als die zarten Einzelgeißeln. Bei Bakterien mit Einzelgeißeln (wie bei den Vibrionen) üben die Kolloide aber bezüglich der Sichtbarmachung der Geißeln gar keine Wirkung aus. Von den Elektrolyten sind für den in Rede stehenden Zweck aber auch nur diejenigen verwendbar, welche nur eine mäßige Geißeldarstellung bewirken. Diejenigen von intensiver Geißeldarstellungskraft töten die Bakterien stets schon in Lösungen von ganz geringer Konzentration ab, bei denen die Geißeln noch gar nicht in Erscheinung treten. Durch Steigerung der Konzentration der erstgenannten Elektrolyte läßt sich auch kein Fortschritt erzielen, da ja auf Grund der oben dargelegten Erklärungsversuche der Sichtbarmachung der Geißeln nach Neutralisation ihrer Ladung wohl kaum mehr eine weitere Adsorption stattfindet, und der Neutralisationspunkt schon in Lösungen ganz geringer Konzentration erreicht sein wird. Tatsächlich erhält man auch stets von einer gewissen Konzentration an weiter keine Steigerung der Geißeldarstellung mehr.

Ein anderer Weg, der beschritten werden könnte, ist die Färbung der Geißeln im nativen Zustande. Eigentlich steht diese letzte Darstellungsweise in keinem prinzipiellen Unterschiede zu der erstgenannten und es lassen sich auch alle möglichen Uebergänge von der einen zur anderen Art feststellen. So setzt bei Hämateïn z. B. schon eine schwache Darstellung der Geißeln bei 0,02-proz. Konzentration ein, die mit steigender Konzentration allmählich zunimmt bis zu einer etwa 0,5-proz. Lösung. Von da an bis zu 1 Proz. bleibt die Wirkung so ziemlich die gleiche. Bei 1,7 Proz. tritt schon vereinzelt Beizwirkung ein, die bei 5-proz. Lösung sich in ausgiebigster Weise einstellt, und eine vollkommene Beizung bezw. Färbung der feinsten Einzelgeißeln bewirkt. Auch die unter die erste Gruppe eingereihten Erscheinungen der Geißeldarstellung mit Hilfe von Säuren und in den Lösungen sauer reagierender Salze stellen eigentlich schon eine Beizwirkung dar und könnten ebensowohl in der einen wie in der anderen Gruppe untergebracht werden. Hämateïn und Brasileïn zeigen sich den Bakterien gegenüber bedeutend weniger schädlich, als irgend eine der zuletzt genannten Substanzen. So bleiben die Bakterien noch in 0,33-proz. Lösung dieser Farbstoffe in lebendem Zustande. Allerdings werden ja dabei die Geißeln noch nicht vollständig zur Darstellung gebracht.

Nach den soeben gemachten Ausführungen scheint also nicht viel Aussicht dafür vorhanden zu sein, daß es jemals gelingen würde, die

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Geißeln aller Bakterien durch native Färbung bei Dunkelfeldbeleuchtung zur Darstellung zu bringen, und wäre man bezüglich der Sichtbarmachung der Geißeln an lebenden Bakterien auf diese Weise so ziemlich an der Grenze des Erreichbaren angelangt.

V. Anwendung von Beizen und Farben zur Darstellung der Geißeln.

Gelingt es, auf die im Abschnitt III beschriebene Weise zum Teil nur die Geißelverbände oder Zöpfe, so wie sie bei der Bewegung der Bakterien durch Aneinanderlagerung von Einzelgeißeln entstehen, nicht aber die letzteren selbst wahrzunehmen, so kann man mit Hilfe von Beizen oder Farben auch die Einzelgeißeln zur Darstellung bringen. Es genügt für die Betrachtung im Dunkelfelde die Anwendung der Beizen ohne nachheriges Färben, wie letzteres sonst bei der Anfertigung von Geißelpräparaten nötig ist. Ebenso kann man auch Farben allein zur Verwendung bringen. Der Unterschied beider kommt bei Dunkelfeldbeleuchtung gar nicht zur Geltung. Es entsteht in beiden Fällen eine Abscheidung der in Lösung befindlichen Substanzen (Metallsalze bezw. Farben) an den Geißeln. Der Begriff von Beize und Farbe fällt also hier vollkommen zusammen. Der Unterschied ihrer Wirkung kommt nur bei der Anwendung der gewöhnlichen Beleuchtung zum Vorschein, indem die gebeizten Geißeln dabei unsichtbar bleiben, während die gefärbten zur Wahrnehmung gelangen. Durch die Ablagerung der in der Beiz- bezw. Farbflotte gelösten Substanzen werden die Geißeln verdickt und sie treten einerseits dadurch, andererseits aber infolge der Umhüllung mit Substanzen von hohem Lichtbrechungsvermögen hellleuchtend hervor.

Diesen Vorgang kann man sehr gut beobachten, wenn man sich Geißelpräparate in der üblichen Weise nach der Loefflerschen oder Zettnowschen Färbemethode anfertigt, jedoch nur die Beizung, nicht aber die Färbung vollführt. Betrachtet man z. B. Typhusbacillen am Objektträger aufgetrocknet und fixiert bei Dunkelfeldbeleuchtung, jedoch ungebeizt und ohne Einschlußmedium nur mit einem Deckglase bedeckt, so kann man an den schwach leuchtenden Bakterien nur ganz vereinzelt eine äußerst zarte Geißel wahrnehmen. Läßt man die Beize zufließen, so treten sofort die Bakterien sowie sämtliche Geißeln hellleuchtend hervor. (Bei gewöhnlicher Beleuchtung sind die Geißeln jedoch nicht zu sehen.)

Man kann die betreffende Stelle dann in Kanadabalsam einschließen und mit einem Deckglase bedecken, und erhält auf diese einfache Weise Dauerpräparate. Um dieselben lange Zeit verwenden zu können, muß man sie in verschlossenen Gefäßen (in einer Schachtel oder in einem Glasgefäß) oder auch frei, aber mit der Präparatschicht nach unten aufheben, jedenfalls aber so, daß kein Staub aufs Deckglas gelangen kann. Dasselbe überzieht sich sonst mit einer Schicht allerfeinsten ultramikroskopischen Staubes, der eine Aufhellung des Gesichtsfeldes hervorruft und die Beobachtung außerordentlich stört.

Aber ebenso wie bei den am Objektträger oder Deckglase angetrockneten Bakterien, kann man die Geißeln auch an den in Flüssigkeiten aufgeschwemmten Individuen beizen. Bei manchen Bakterienarten gelingt die Darstellung der Geißeln auf diese Weise schon mit Hilfe der üblichen Tanninbeizen, so wie sie zur Herstellung von Geißeltrockenpräparaten Anwendung finden. Nur müssen die Beizflüssigkeiten vollkommen klar (optisch rein) sein.

Bei Typhusbacillen gelingt es z. B. mit folgenden Beizen die Geißeln bei Dunkelfeldbeleuchtung sichtbar zu machen: Mit der von Loeffler (16), van Ermengem (31) (1-proz. Tannin- + 1-proz. Osmiumsäurelösung zu gleichen Teilen), Peppler (32) (1-proz. Tannin- + 0,01-proz. Chromsäurelösung zu gleichen Teilen), Rossi (33) (1-proz. Tannin- + 0,1-proz. Karbolfuchsinlösung zu gleichen Teilen), Smith (34) (1-proz. Tannin- + 0,1-proz. Sublimatlösung), Gemelli (35) (1-proz. Tannin- + 0,05-proz. Kaliumpermanganatlösung)[1].

Wie ersichtlich ist, müssen die Beizen für den vorliegenden Zweck in einer etwas anderen Zusammensetzung angewendet werden, als wie dieselbe von ihren Autoren angegeben wurde. Beim Beizen wurde so verfahren, daß je 1 Tropfen der beiden Bestandteile der Beizen auf dem Objektträger vermischt und in diese eine Spur von der Bakterienaufschwemmung im destillierten Wasser verteilt wurde.

Eine ausgiebigere Wirkung als irgendeine der oben angeführten Beizen besitzt die Zettnowsche Beize (36) (Tannin + Brechweinstein), die sich ja auch bei der Herstellung von Trockenpräparaten ausgezeichnet bewährt hat. In ihrer gewöhnlichen Zusammensetzung ist sie jedoch trüb und daher für den vorliegenden Zweck nicht verwendbar. Durch vermehrten Tanninzusatz kann man es aber nach Zettnows Angabe erreichen, daß sich das ausgeschiedene Antimontannat im Ueberschuß der Gerbsäure vollständig löst und die Beize ganz klar wird.

Zur Herstellung der klaren Zettnow-Beize verfährt man am besten folgendermaßen: Zu 50 ccm einer 5-proz. Tanninlösung, die auf 50—60° C erhitzt wurde, setzt man nach und nach in kleinen Mengen 5 ccm einer 2-proz. Brechweinsteinlösung. Es bildet sich anfangs beim Eingießen eine milchige Trübung und es entstehen einzelne weiße Flocken in der Flüssigkeit. Beim Umschütteln und weiteren Erhitzen wird die Flüssigkeit aber vollkommen klar und bleibt es auch dauernd nach dem Abkühlen.

Diese Beize eignet sich vorzüglich zur Darstellung der Geißeln bei Typhusbacillen, bei Proteus vulgaris, weniger gut bei Paratyphus und Bact. coli. Sie wird zweckmäßig in folgender Weise angewendet:

Man entnimmt mit einer kleinen Platinöse etwas Bakterienmaterial aus dem dichten weißlichen Satze, der sich im Kondenswasser einer 2—3 Tage alten Agarkultur gebildet hat, und verteilt dasselbe in einem Tropfen destillierten Wassers, so daß eine kaum merkliche milchige Trübung entsteht. Man hat dabei darauf zu achten, daß man möglichst wenig Kondenswasser, jedoch möglichst viel Bakterienmaterial in die Aufschwemmung bekommt. Auf den gut gereinigten Objektträger bringt man einen kleinen Tropfen der klaren Zettnow-Beize und überträgt in denselben eine Spur von der Bakterienaufschwemmung. Es darf dabei in der Beize keine mit freiem Auge sichtbare Trübung entstehen. Es tritt zwar eine schwache ultramikroskopische Auskörnung im Präparate ein, die aber in keiner Weise stört. Man kann die Bakterien auch direkt von der Oberfläche einer frischen Agarkultur entnehmen (nicht über 12 Stunden alt), doch hat es sich ergeben, daß im ersteren Falle die Geißeln viel weniger leicht abreißen.

Die klare Zettnow-Beize bleibt aber ganz ohne Wirkung auf die Geißeln von Spirillum volutans, von Sarcinen und Vibrionen. Unter Zuhilfenahme einer Natriumphosphatlösung kann man jedoch auch die Spirillengeißeln beizen.

Man verfährt zur Herstellung eines Beizpräparates zunächst genau so, wie dies eben für die Bacillen angegeben wurde, bringt aber auf das Deckglas noch einen kleinen Tropfen einer 5-proz. Dinatriumphosphatlösung und stülpt dieses dann mit dem Tropfen nach unten auf die Beizflüssigkeit am Objektträger, so daß die beiden Tropfen sich gleichmäßig mischen. Es tritt zwar eine stärkere Auskörnung ein, doch werden die Geißeln in ihrem vollen Ausmaße dargestellt.

Dieses Verfahren läßt sich auch mit Vorteil zur besseren Darstellung der Geißeln von Paratyphus und Bact. coli verwenden, es ist immerhin etwas umständlich, und gelingt nur dann gut, wenn man die Menge der verwendeten Reagentien genau abgestimmt hat.

---

[1] Gemelli stellte seine Beize ohne Tannin her, nur mit $KMnO_4$, $CaCl_2$ und Neutralrot.

Aber speziell bei Spirillum volutans braucht man erst gar nicht zu einem solch umständlichen Verfahren zu greifen. Hier wirkt schon Tanninlösung allein bei einer gewissen Konzentration als ziemlich ausgiebige Beize. In 2—0,2-proz. Tanninlösung werden die Geißeln dieser Bakterienart zur vollständigen Darstellung gebracht, sie erscheinen allerdings etwas zart und von Verdickungen oder Körnchen besetzt, ähnlich wie man dies in manchen anderen sauer reagierenden Beizlösungen beobachtet (Alaun, Chromsulfat usw.). Die Geißeln von Typhus werden von der Tanninlösung aber nur unvollständig gebeizt.

Um nun eine möglichst ausgiebige Beize von allgemeiner Anwendbarkeit zu finden, wurden weitere Versuche mit einer größeren Anzahl von Beizen und Farben unternommen.

Als Untersuchungsobjekt dienten Typhusbacillen und Spirillum volutans.

Die Bakterien wurden von der Oberfläche frischer Agarkulturen zunächst in destilliertem Wasser aufgeschwemmt und dann in die Beiz- bezw. Farblösung übertragen. Doch wurden die Versuche auch stets in der Weise durchgeführt, daß die Bakterien direkt von der Agaroberfläche in die zu untersuchende Lösung zur Verteilung kamen. Die Ergebnisse beider Versuchsreihen stimmten aber stets vollkommen überein.

Die in der Färberei verwendeten Beizen, z. B. Aluminium-, Chrom-, Eisen-, Kupfer-, Zinksalze, üben auf die Geißeln der Typhusbacillen mit Ausnahme von Chromalaun und Aluminiumsulfat, in deren Lösung eine schwache Darstellung der Geißeln erfolgt, keine Beizwirkung aus. Bei Spirillum volutans tritt in den Lösungen der Erd- und Schwermetalle, wenn dieselben sauer reagieren, zwar eine Darstellung der Geißeln ein, dieselbe ist aber meistens unvollkommen und erstreckt sich nicht auf alle Geißeln.

Die Geißeln, die also hauptsächlich nur unter Anwendung sauer reagierender Beizen und vor allem durch Tannin oder Tanninverbindungen gebeizt werden, zeigen in dieser Beziehung ein analoges Verhalten, wie die Baumwollfasern, welche Tannin äußerst begierig aufnehmen, für die basischen Farbstoffe aber nur geringe Anziehungskraft besitzen. Man konnte daher erwarten, daß die Geißeln auch von den direkten Baumwollfarbstoffen [1]), welche sich auf der Baumwollfaser ohne Anwendung von Beizen abscheiden, gefärbt werden würden.

Dies ist aber wenigstens bei den in Untersuchung gezogenen Farbstoffen nicht der Fall, und zwar bei Congorot, Brillant-Congo R, Benzo-Purpurin 4 B, Chrysamin-G.

Daß die basischen Farbstoffe aus der Gruppe der direkten Woll- und Seidenfarben [1]) die Geißeln nicht anfärben, konnte nicht wunder nehmen, da sie ja auch auf die Baumwollfasern nur ziehen, wenn diese vorher mit sauren Beizen (Gerbstoffen) behandelt wurden. Es wurden folgende Farbstoffe aus dieser Gruppe versucht: Fuchsin, Pyronin G, Neutralrot, Saffranin, Chrysoidin, Methylgrün, Malachitgrün, Methylenblau, Toluidinblau, Nilblau und Bismarckbraun.

---

[1]) Die Einteilung der Farbstoffe in:
1. Direkte Baumwollfarbstoffe,
2. direkte Woll- und Seidenfarbstoffe,
   a) basische,
   b) saure,
3. Beizenfarbstoffe, hält sich an diejenige, welche im Handbuch der Färberei von Knecht, Rawson und Löwenthal (38) durchgeführt ist.

Die Anwendung von Neutralrot, Methylenblau, Toluidinblau, Nilblau und Bismarckbraun bot deswegen Interesse, weil diese Farbstoffe in der Histologie zur Färbung intra vitam (39) verwendet werden.

Von sauren Farbstoffen (aus der Gruppe der direkten Woll- und Seidenfarbstoffe), welche die Baumwollfasern ebenfalls nicht anfärben, wurden ohne Erfolg versucht: Pikrinsäure, Ponceau R, Croceïn-Scharlach, Brillant-Croceïn, Eosin, Säuregrün, (Anthrachrysomsulfonsaures Na), Säuregelb (Tropäolin 00), Azosäuregelb (Azoflavin), Naphtolorange (Tropäolin 000 No. 1).

Bei den Beizenfarbstoffen, die nur nach Anwendung von Beizen wirken, war ein direktes Anfärben nicht zu erwarten, es wurden auch nur, und zwar mit negativem Ergebnisse, Säurealizarinblau (alizarinsulfonsaures Na) untersucht.

All diese Farbstoffe hatten nicht zu dem gewünschten Ergebnisse geführt. Nun waren früher einmal Versuche unternommen worden, im Anschluß an die von Koch (6) veröffentlichten ersten Beiz- und Färbeversuche an Bakteriengeißeln. Koch hatte Chromsäure als Beize und Blauholzextrakt zur Färbung verwendet. Versuche mit Zuhilfenahme dieser Färbemethode hatten ergeben, daß die Geißeln von Spirillum volutans durch eine 1-proz. Blauholzextraktlösung mit etwas Chromsäurezusatz mitunter sehr gut gebeizt werden. Besser bewährte sich noch eine Mischung von gleichen Teilen einer 1-proz. Blauholzextraktlösung und einer 0,01 konzentrierten Pikrinsäurelösung. Doch waren die Ergebnisse immer etwas unsicher. Verwendete man dagegen an Stelle des Blauholzextraktes den färbenden Bestandteil desselben, nämlich Hämatoxylin- oder Hämateïn in frisch bereiteter Lösung[1]), so erhielt man keinerlei Färbung der Geißeln.

Diese Versuche wurden jetzt wieder aufgenommen. Zunächst wurde eine gereifte Hämatoxylinlösung nach Weigert zur Anwendung gebracht. Dieselbe bewirkte bei Typhusbacillen tatsächlich eine ausgiebige Darstellung der Geißeln, bei Spirillum volutans blieb dagegen diese Wirkung aus. Es gelang aber auch hier, die Geißeln in vollkommener Weise zu färben, wenn man der Hämatoxylinlösung etwas Neutralrot zusetzte.

Es wurde dabei so verfahren, daß der auf den Objektträger gebrachte Tropfen der Hämatoxylinlösung mit der gleichen Menge einer schwachen blaßrot gefärbten Neutralrotlösung vermischt und in die Mischung einer Spur Bakterienmaterial von einer Aufschwemmung im destillierten Wasser übertragen wurde. Die Bakterien waren alle abgetötet, aber die Geißeln traten in vollem Ausmaße in Garben in Erscheinung.

Eine ähnlich bereitete Mischung, aber von 0,1 Proz. Blauholzextrakt — mit Neutralrotlösung — bewirkte bei Typhus noch eine teilweise Färbung der Geißeln, und trotzdem verblieben einzelne Bakterien noch kurze Zeit am Leben. Weitere Erfolge konnten aber in dieser Hinsicht nicht erzielt werden. Wie sich dies auch früher bei anderen Beizen gezeigt hatte, wurden die Bakterien in Lösungen, in denen die Geißeln zur Darstellung kamen, getötet. Lösungen von geringerer Konzentration, in welchen die Bakterien am Leben blieben, übten auf die Geißeln keine Beizwirkung mehr aus.

Es stellte sich dann später heraus, daß eine höherprozentige (fünfproz.) Lösung von Hämatoxylin, welches durch irgendeinen Oxydationsprozeß in Hämateïn übergeführt worden war, schon allein nicht nur die Geißeln von Spirillum volutans, sondern die-

---

1) Lösung von kristallisiertem Hämateïn.

jenigen aller untersuchten Bakterien vollkommen färbt, so daß sie somit als **Geißelbeize** bezw. Färbemittel von **allgemeiner Anwendbarkeit** bezeichnet werden kann.

Die Anfertigung einer geeigneten Farblösung wird am zweckmäßigsten in der folgenden Weise vollzogen:

Man stellt sich eine 5-proz. wässerige Hämatoxylinlösung her, löst jedoch die entsprechende Menge von Hämatoxylin (in kristallisierter Form), nicht in gewöhnlichem destillierten Wasser, sondern bringt sie direkt in 0,3-proz. Wasserstoffsuperoxydlösung. Das Hämatoxylin löst sich bei gewöhnlicher Temperatur nicht vollständig auf, wohl aber bei längerem Erhitzen. Man stellt die zunächst noch unvollständige Lösung daher aufs kochende Wasserbad und beläßt sie zwei Stunden darauf. Nach Ablauf dieser Zeit hat sich alles Hämatoxylin gelöst (man schüttelt in der Zwischenzeit die Farbflüssigkeit vorteilhaft öfter um), aber es hat sich auch gleichzeitig eine sehr ausgiebige Oxydation vollzogen. Die Lösung hat tief dunkelbraune Farbe angenommen. Die Ueberführung des Hämatoxylins in Hämateïn vollzieht sich bei weitem nicht so rasch, wenn man das Hämatoxylin einfach in destilliertem Wasser durch Erhitzen zur Lösung bringt. Sie dauert in diesem Falle monatelang und wird nie so vollständig. Man filtriert hierauf heiß. Nach dem Abkühlen ist die immerhin wohl zum größeren Teil Hämateïn enthaltende Lösung sofort gebrauchsfertig. Die Oxydation ist aber doch noch keine ganz vollständige, sie schreitet dauernd fort. Wird die Wirkung der Hämateïnlösung infolgedessen nach 1—2 monatelangem Stehen zu intensiv, d. h. werden die Geißeln zu dick gefärbt, so muß man die Lösung für den Gebrauch doppelt bis dreifach verdünnen.

Die so hergestellte 5-proz. Hämateïnlösung besitzt eine außerordentlich ausgiebige Färbekraft für den Bakterienkörper, wie auch für die Geißeln. Beide erscheinen bei Dunkelfeldbeleuchtung hellleuchtend und von einer dicken Farbkruste umhüllt. Betrachtet man so gefärbte Bakterien bei gewöhnlicher Beleuchtung, dann erscheint der Körper dunkelbraun gefärbt und die Geißeln treten in derselben Farbe oder nur grau gefärbt hervor.

Diese Farblösung ist, wie schon erwähnt, von ganz allgemeiner Anwendbarkeit, sie hat sich bei allen bis jetzt untersuchten Bakterien, auch bei den kleinsten Arten, bewährt. Bei der Anfertigung von Präparaten hat man die im folgenden Abschnitte aufgeführten Vorschriften zu beachten.

Die Vorzüge, welche die Anwendung der Hämateïnbeize gegenüber dem alten Verfahren der Geißelfärbung besitzt, sind: rasche Herstellung und dauernde Haltbarkeit der Farblösung, Einfachheit und Schnelligkeit des Färbeverfahrens.

Die Anwendung dieses Färbeverfahrens wird sich vor allem dann empfehlen, wenn es sich darum handelt, sich rasch von dem Vorhandensein von Geißeln zu überzeugen, die so fein sind, daß sie ungefärbt bei Dunkelfeldbeleuchtung nicht zur Wahrnehmung gelangen.

Dieselbe Wirkung wie das Hämateïn übt auch das diesem nahe verwandte und ähnlich konstituierte Brasileïn in konzentrierter Lösung aus. Die Lösung wird in genau derselben Weise wie bei Anfertigung der Hämateïnlösung, jedoch 10-proz., hergestellt. Man bringt die entsprechende Menge von Brasileïn in 0,3-proz. Wasserstoffsuperoxydlösung, erhitzt zwei Stunden lang auf dem Wasserbade und filtriert ab. Es bleibt ein ungelöster Rückstand zurück. Die Wirkung der 5-proz. Brasileïnlösung ist etwas weniger intensiv als diejenige der gleichprozentigen Hämateïnlösung, aber die konzentrierte Brasileïnlösung, die etwa 7—8-proz. sein dürfte, kommt der letzteren an Wirkung vollkommen gleich.

In beiden Farblösungen tritt eine starke Farbabscheidung an den Geißeln ein; die letzteren erscheinen sehr dick, stets aber etwas körnig, d. h. mit gleichmäßig verteilten Verdickungen.

Hämateïn und Brasileïn hat man als saure (phenolartige) Farbstoffe anzusehen. Daß dieselben ein so ausgezeichnetes Färbemittel für die Geißeln darstellen, steht mit dem von A. Pappenheim (24) für die histologische Färbung ganz allgemein ausgesprochenen Satze im Einklange, daß basische Farbstoffe vor allem die Kernsubstanzen, saure Farbstoffe das Plasma und die Plasmaprodukte färben. Und als Plasmaprodukte hat man die Geißeln doch zweifelsohne anzusehen. Dieses Ergebnis steht auch in Uebereinstimmung mit der im Abschnitt IV, 6 beschriebenen Erscheinung, daß die Säuren und die Salze starker Säuren und schwacher Basen, die in Lösung sauer reagieren, ein äußerst intensives Geißeldarstellungsvermögen besitzen.

Werden die Geißeln an Bakterien, die in flüssigen Medien aufgeschwemmt sind, durch Hämateïn oder Brasileïn ohne weiteres gefärbt, so ist dies merkwürdigerweise nicht der Fall bei den am Objektträger angetrockneten Bakterien. Für diese bleiben die beiden Farblösungen ganz ohne jede Einwirkung. Man erhält aber auch im letzteren Falle ein Anfärben der Geißeln, wenn man in folgender Weise verfährt: Die Bakterien werden zunächst in der zur Anfertigung von Geißelpräparaten üblichen Weise auf dem Deckglase angetrocknet und in der Flamme fixiert. Hierauf bringt man auf einen Objektträger einen kleinen Tropfen einer 10-proz. Hämateïnlösung (die in derselben Weise, wie oben angegeben, hergestellt wurde), stülpt das Deckglas mit der Bakterienschicht nach unten über diesen Tropfen, und erhitzt den Objektträger über der Flamme, bis die Farbflüssigkeit allmählich entweicht und sich einzelne Luftblasen zwischen Objektträger und Deckglas bilden[1]). Zur Betrachtung der Geißeln muß man aber wieder Hämateïnlösung zufließen lassen. Denn in Wasser oder in anderen hämateïnlösenden Flüssigkeiten geht die Färbung wieder zurück. Würde man andererseits das Deckglas trocknen lassen und es mit Kanadabalsam am Objektträger ankleben, so würde man zu viele Unreinigkeiten im Präparate erhalten.

3. Das Abreißen der Geißeln. Vorschriften zum Färben der Geißeln.

Beim Herstellen von Geißelfärbepräparaten hat man stets mit dem Umstande zu kämpfen, daß die Geißeln sich allzuleicht vom Bakterienkörper ablösen, und man dann an den Bakterien meist nur eine geringere Anzahl von Geißeln erhält, als es dem Zustande am lebenden Individuum entspricht. Ohne daß man eine Ursache dafür angeben kann, erhält man nebeneinander im Präparate Stellen, an denen die Geißeln wunderschön erhalten sind neben solchen, an denen die letzteren vollständig fehlen.

Verfolgt man bei Dunkelfeldbeleuchtung zunächst das Verhalten der Geißeln am lebenden Bakterienkörper, so kann man feststellen, daß die Geißeln äußerst fest am Körper haften. Auch starke Strömungen im Präparate, starkes Hin- und Herbewegen des Aufschwemmungstropfens etwa mit der Platinöse, bewirken kein Abreißen der Geißeln. Dies gilt vor allem von Bakterien von der Oberfläche junger (nicht über 24 Stunden alter) Agarkulturen oder von solchen, die in flüssigen Nährlösungen gezüchtet wurden. Aber auch in älteren Kulturen werden die Geißeln im allgemeinen nicht abgeworfen, wie zumeist angenommen wird, sondern sie verbleiben selbst an den toten Individuen in Verbindung mit dem Körper.

---

1) Doch dürfen die Gläser nur so stark erhitzt werden, daß man sie immer noch mit den Fingern anfassen kann, ohne sich zu verbrennen.

Bei den auf der Oberfläche fester Nährböden gewachsenen Bakterien ist aber der Zusammenhang der Geißeln mit dem Körper selbst in frischen Kulturen kein allzu inniger, und er wird naturgemäß noch viel loser, wenn die Bakterien, sei dies nun auf natürliche Weise, in älteren Kulturen oder durch künstliche Beeinflussung zum Absterben gebracht worden sind, er wird durch mechanische Einflüsse dann leicht vollständig aufgehoben.

Bei den in flüssigen Nährmedien gewachsenen Bakterien ist der Zusammenhang der Geißeln mit dem Körper durchweg ein viel festerer, und er hält auch bei den abgestorbenen Individuen in weitgehendem Maße an, so daß ihre Geißeln bezüglich des Abreißens gegen mechanische Beeinflussung ziemlich unempfindlich sind. Dieser Umstand ist wahrscheinlich dadurch zu erklären, daß die Geißeln in den Nährflüssigkeiten eben dauernd in Funktion sind, während sie auf den festen Nährflächen nicht richtig zur Betätigung gelangen können. Ein in rege Betätigung versetztes Organ wird sich aber an und für sich besser entwickeln, und demgemäß auch mit dem Körper, von dem es Nahrungsstoffe empfängt und den es in Bewegung erhält, in besserer Verbindung stehen.

Nun trifft man aber auch in flüssigen Kulturen stets abgerissene Geißeln an, diese sind aber fast immer von ganz enormer Länge mit 3—7 vollen Schraubenwindungen, und es ist anzunehmen, daß sie infolge von Verstrickungen mit anderen Bakterien oder mit den Geißeln derselben zum Abreißen gebracht worden sind. Diese Möglichkeit des Verhängens der Geißeln ist natürlich eine um so größere, je länger die Geißel ist, daher mag es auch kommen, daß vor allem die sehr langen Geißeln abreißen. Tatsächlich sieht man auch häufig derartige zu mehreren zusammenhängende, abgerissene Geißeln.

Was die mechanischen Einflüsse anbelangt, durch welche die Geißeln der von der Oberfläche fester Nährböden genommenen und abgetöteten Bakterien zum Abreißen gebracht werden, so hat sich erwiesen, daß diesbezüglich das Hin- und Herbewegtwerden in flüssigen Medien keine so große Rolle spielt. Man kann beobachten, daß die mit Hämateïn behandelten, frei im Präparate schwimmenden Bakterien die Geißeln zumeist im vollen Ausmaße besitzen. Die größte Möglichkeit zum Abreißen der Geißeln ist vielmehr dann gegeben, wenn die Bakterien zu Boden sinken und am Objektträger haften bleiben, während noch weitere Flüssigkeit über sie hinwegströmt. Dieser Vorgang stellt sich stets ein beim Antrocknen der auf den Objektträger gebrachten Flüssigkeitstropfen. Man kann ihn bei Dunkelfeldbeleuchtung sehr deutlich verfolgen, wenn man schwache Objektive (No. 3 oder 4), welche auch ohne Deckglas noch ganz gute Bilder geben, mit allerstärksten Okularen (Komp.-Ok. 18) zur Beobachtung verwendet. Man sieht dann ganz deutlich, wie die im Tropfen schwimmenden Bakterien am Rande allmählich zu Boden sinken und in dem Augenblicke, in welchem die Flüssigkeit vom Rande zurückweicht, was immer nur ruckweise erfolgt, die Geißeln, die noch nicht ganz am Objektträger aufliegen, durch den erwähnten Ruck weggerissen werden, während der Bakterienkörper, der schon fest am Objektträger anhaftet, zurückbleibt.

Sehr gut kann man die Wirkungen der Strömungen im Präparate auf folgende Weise verfolgen:

Ein Tropfen einer mit Osmiumsäure versetzten Spirillenaufschwemmung wird auf den Objektträger gebracht und mit einem Deckglase bedeckt. Ist die Flüssigkeit allmählich verdunstet, so daß nur eine ganze dünne Schicht übrig bleibt und die Spirillen am Objektträger aufzukleben beginnen, dann läßt man von einer Seite des Präparates aus Hämateïnlösung zufließen. An dieser Seite erscheinen die Spirillen hernach völlig geißellos, und die Geißeln über den ganzen Untergrund verstreut, während auf der gegenüberliegenden Seite, an welcher die Wucht der anprallenden Flüssigkeit schon bedeutend geschwächt war, die Geißeln an den Bakterien größtenteils sehr schön erhalten sind.

Es erklärt sich jetzt auch, warum die von Zettnow angegebene Methode der Behandlung der Deckgläser zur Geißelfärbung die einzig richtige und zuverlässige ist.

Zettnow befreit bekanntlich die Deckgläser, auf denen er die zu färbenden Bakterien aufbringt, vorher durch längeres Erwärmen auf einem Metallblech vollständig vom Fett. Nach dem Wiedererkalten der Deckgläser trägt er die die Bakterien enthaltende Flüssigkeit mit Hilfe einer ganz kleinen Oese in schlangenförmigen Windungen auf das Deckglas auf. Es kommt so auf jede Stelle des letzteren nur eine ganz geringe Flüssigkeitsmenge, die sich auf dem fettfreien Glase sofort nach allen Richtungen ausbreitet und beinahe augenblicklich verdunstet. Strömungen werden auf diese Weise fast vollkommen vermieden und die Geißeln bleiben an den Bakterien vollständig erhalten.

Beim Färben der Geißeln direkt in der Flüssigkeit mit Hilfe der Hämateïnlösung hat man daher die oben erwähnten Umstände zu berücksichtigen und vor allem das Hinwegströmen der die Bakterien enthaltenden Flüssigkeit über den Objektträger oder zwischen Deckglas und Objektträger nach Tunlichkeit zu vermeiden. Man wird auch hier Objektträger und Deckglas möglichst fettfrei machen, und zwar am besten auf die einzig verläßliche Weise, daß man sie auf einem reinen Eisenbleche nach vorheriger gründlicher Reinigung mit Wasser und Alkohol, etwa $^1/_2$ Stunde lang erhitzt, auf jeden Fall aber so lange, bis ein Wassertropfen auf dem wiedererkalteten Glase vollkommen zerfließt. Man arbeitet ferner zweckmäßig mit möglichst kleinen Deckgläsern, z. B. mit kreisrunden, von 1 cm Durchmesser. Des weiteren hält man folgendes Verfahren ein:

Man verteilt mit Hilfe einer Platinöse einen kleinen Tropfen der Bakterienaufschwemmung auf den Objektträger derart, daß derselbe sich über dieselbe Oberfläche erstreckt, die das Deckglas zu bedecken vermag. Auf das letztere breitet man in derselben Weise einen Tropfen der 5-proz. Hämateïnlösung aus und stülpt es, Flüssigkeit nach unten, genau über dem Aufschwemmungstropfen.

Dieses Verfahren ist vor allem dann anzuwenden, wenn die Bakterien in der Aufschwemmung noch lebend waren. Sie werden dann erst in dem Augenblicke abgetötet, in welchem sie mit der Hämateinlösung in Berührung kommen. Es ist keine Gefahr vorhanden, daß sie dann noch viel herumbewegt werden, und man hat so die Gewähr dafür, daß man die Geißeln in dem Zustande festhält und zur Darstellung bringt, in dem sie sich am lebenden Individuum befunden haben.

Hat man dagegen die Bakterien schon vor der Färbung mit Hämateïn, etwa durch Behandlung mit Osmiumsäure abgetötet, so kann man das Verfahren vereinfachen. Man erhitzt dann bloß die Deckgläser bis zur Fettfreiheit, trägt auf denselben die Hämateïnlösung auf, so daß sie die ganze Oberfläche des Deckglases ausfüllt und verteilt darin eine kleine Menge von der Bakterienaufschwemmung mit Hilfe einer Platinöse, derart, daß man die letztere bloß an der Oberfläche des Tropfens herumbewegt, ohne das Deckglas zu berühren. Dann legt man das Deckglas, wieder Flüssigkeit nach unten, auf den Objektträger.

Aus dem Gesagten ergibt es sich, daß es behufs Färbung der Geißeln von in Flüssigkeiten aufgeschwemmten Bakterien am vorteilhaftesten wäre, direkt die in den Nährflüssigkeiten gewachsenen Individuen heranzuziehen. Dies läßt sich aber im allgemeinen nicht durchführen, da Hämateïn und Brasileïn mit den eiweißhaltigen Nährlösungen selbst schon starke Ausfällungen geben, durch welche die Beobachtung unmöglich gemacht wird. Ganz gut hat sich jedoch das folgende Verfahren erwiesen:

Man überimpft in das Kondenswasser von Agarnährböden viel Bakterienmaterial, so daß darin eine reichliche Bakterienentwickelung stattfindet, und nach 2—3 Tagen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die ganze Flüssigkeit stark getrübt erscheint. Von dem weißlichen Bakteriensatze überträgt man eine kleine Menge in einen großen Tropfen destillierten Wassers und verteilt dieselbe gleichmäßig in demselben, so daß eine schwachmilchige Trübung entsteht. Diese Aufschwemmung benutzt man dann zur Anfertigung des Färbepräparates, indem man eine kleine Menge davon in einen Tropfen der Hämateïnlösung auf dem Objektträger oder auf dem Deckglase bringt. Infolge der starken Verdünnung der Nährflüssigkeit treten im Präparate nur ganz geringe körnige Ausfällungen ein. Man kann aber auch derart verfahren, daß man 1—2 Tage alte Bouillonkulturen verwendet, und nach dem Verfahren von Zettnow die Flüssigkeit von dem Satze ab in ein Spitzglas gießt, in dem sich 2—3 ccm einer 4-proz. Formaldehydlösung (= 10 Proz. Formalin) befinden. Man läßt 1—2 Tage lang absetzen, gießt die trübe Flüssigkeit vom Bodensatze ab und schwemmt den letzteren mit 0,1-proz. Formaldehydlösung auf und läßt wieder absetzen. Dies wiederholt man eventuell noch einmal. Von dem Satze verwendet man dann eine Spur zur Anfertigung der Aufschwemmung im destillierten Wasser.

Naheliegend wäre es, die Bakterien in eiweißfreien Nährlösungen zu züchten, wie solche von Uschinsky (41), Fraenkel (42) und Maassen (43) angegeben worden sind. Doch enthalten dieselben stets Phosphate und Karbonate, welche das Hämateïn in nicht färbende Verbindungen überführen.

Was die sonstigen Veränderungen anbelangt, welche die Geißeln infolge der Präparation erleiden sollen, so sei diesbezüglich erwähnt, daß ein Auf- oder Verquellen der Geißeln niemals beobachtet werden konnte, weder in verdünnten Salzlösungen noch im destillierten Wasser. Es müßte denn sein, daß man die Körnchenbildung, die in sauren Lösungen an den Geißeln auftritt, und von der im vorhergehenden Abschnitte die Rede war, als Aufquellung der Geißeln auffassen wollte.

Von der Oberfläche einer Agarkultur wurden Spirillen in destilliertem Wasser aufgeschwemmt, so daß die Flüssigkeit schwach getrübt erschien. Nach 24 Stunden waren alle Spirillen abgestorben und erschienen stets sehr schmal. Wurden die Spirillen in 2-proz. NaCl-Lösung gebracht, so zeigten die Geißeln ihre normale schraubige Form und ihre gewöhnliche Länge, bloß erschienen sie etwas dünner als sonst. Mit Hämateïn färbten sie sich schlechter an, als im frischen Zustande. Selbst die dicken Geißelzöpfe ließen stets eine körnige Struktur erkennen und sie verjüngten sich stets gegen die Spitze zu. Die freien Einzelgeißeln erschienen oft nur äußerst zart und aus lauter kleinen Bruchstücken zusammengesetzt.

Diese Erscheinungen sind aber zweifelsohne auf den Einfluß der etwas sauer reagierenden Farblösung zurückzuführen. Denn werden schon die Einzelgeißeln frischer Spirillen stets mit einer körnigen Struktur dargestellt, so tritt dieselbe begreiflicherweise in noch viel stärkerem Maße hervor bei den durch den langen Aufenthalt in destilliertem Wasser doch etwas geschädigten Geißeln.

Ein Aufquellen oder Breiterwerden der Geißeln konnte aber, wie schon erwähnt, niemals beobachtet werden, die diesbezüglichen Erscheinungen, so wie sie von Migula (8, p. 100), Fischer (11, p. 96) beschrieben werden, müssen wohl auf die Beeinflussung der Geißeln beim Antrocknen und Fixieren und wahrscheinlich auch auf die Einwirkung der zur Färbung verwendeten Beize zurückgeführt werden.

VI. Die Bewegung der polarbegeißelten Bakterien mit Hilfe der Geißeln.

1. Geschichtliches.

Es ist noch gar nicht so lange her, daß die Ansichten über die Bedeutung der Geißeln bei den Bakterien weit auseinandergingen. Während ein Teil der Forscher die Geißeln als Bewegungsorgane ansah, denen dieselbe Rolle zukäme, wie den analogen Organen größerer einzelliger Organismen, wurden sie von einem anderen Teile für unnütze Anhängsel gehalten, die keinerlei Bedeutung besitzen sollten [so von van Thieghem (45), de Bary (46), Hueppe (47) und Kurth (48)].

Heute, da es mit Hilfe ausgezeichneter Beiz- und Färbemethoden möglich geworden ist, bei allen beweglichen Bakterienarten Geißeln nachzuweisen, dürften über die Natur der letzteren als Bewegungsorgane wohl keine Zweifel mehr bestehen. Jeglichen Zweifel zerstört aber die direkte Beobachtung der Geißeln in Bewegung befindlicher Bakterien, wie sie bei Dunkelfeldbeleuchtung möglich ist, wobei die Art ihrer Betätigung ganz deutlich in Erscheinung tritt. Es zeigt sich dann, daß niemals eine Bewegung des Körpers eintritt, wenn nicht gleichzeitig oder vielmehr knapp vorher eine solche der Geißeln stattgefunden hat, ferner, daß jegliche Betätigung der Geißeln eine entsprechende Reaktion des Bakterienkörpers zur Folge hat.

2. Die Geißelbewegung größerer einzelliger Organismen.

Die Bewegungserscheinungen der polarbegeißelten Bakterien zeigen, wie dies vorauszusehen war, große Aehnlichkeiten mit denjenigen, die bei den größeren einzelligen polarbegeißelten Organismen beobachtet worden sind. Diese Bewegungsvorgänge sind bezüglich der Schwärmsporen der Pilze und Algen von Botanikern wie **Nägeli** (49), **Pfeffer** (50), **Hofmeister** (51), **Migula** (52), **Klebs** (53) u. a., bezüglich der Flagellaten und der Schleimpilze hauptsächlich von Zoologen, so von **Bütschli** (54), **Plenge** (55), **Jennings** (56), **Délage** und **Hérouard** (57), die Geißelbewegung im allgemeinen von **Hertwig** (58), **Hensen** (59) und **Engelmann** (60) beschrieben worden.

Eine sehr anschauliche Darstellung der Mechanik der Geißelbewegung bei den Flagellaten gibt **Bütschli** (54). Er betrachtet eine einpolig begeißelte Flagellate. Die Geißel befindet sich während der Bewegung am vorderen Ende des Körpers und besitzt die Gestalt einer Schraubenlinie (s. Fig. 6). Ist die Schraube rechts gewunden [nach der Bezeichnung der Physiker, das ist linksgängig im Sinne der Botaniker[1]], und rotiert sie rechts herum (von rückwärts gesehen) derart, daß sich jeder ihrer Punkte von links nach oben und über rechts nach unten bewegt, dann übt sie auf den Körper infolge des Widerstandes der Flüssigkeit ein Kraftmoment PA aus, welches sich in die beiden zueinander senkreckten Komponenten PB und PC zerlegen läßt. Die erstere bewirkt die Vorwärts-, die letztere die Drehbewegung des Flagellatenkörpers. Die schraubige Gestalt der Geißel wird durch Kontraktionen bedingt, die entweder an der Oberfläche der Geißel längs einer zur Geißelachse Parallelen gerade verlaufen, während die Geißel selbst schraubig tordiert ist, oder aber sich an der nicht tordierten Geißel auf einer Schraubenlinie fortpflanzen. In beiden Fällen nimmt also die Linie, längs welcher die Kontraktionen entlang-

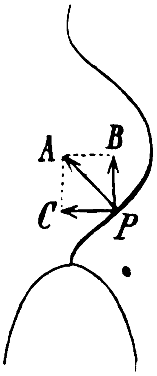


Fig. 6.

---

[1] Es soll im folgenden für den Windungsinn von Schrauben nicht die Bezeichnungsweise der Botaniker in Anwendung gebracht werden, sondern die entgegengesetzte der Physiker und Zoologen, die sich mit derjenigen des allgemeinen Sprachgebrauches deckt, und die auch von dem Botaniker **Nägeli** in „Rechts und links" (49, p. 53) als die zweckmäßigere anerkannt worden ist.

Befindet sich danach eine Schraube in horizontaler Lage und betrachtet man sie von rückwärts, so wird sie als rechtsgängig bezeichnet, wenn ein Punkt sich von links über oben nach rechts über unten und wieder nach links bewegen muß, um längs der Windungen entlang, sich vom Beobachter zu entfernen (= linksgängige Schraube der Botaniker). Muß sich dagegen der Punkt in umgekehrter Richtung, nämlich von unten nach rechts über oben nach links bewegen, dann ist die Schraube linksgängig. Ebenso soll der entsprechende Drehungssinn in der Weise, wie sich der Punkt bei der rechtsgängigen Schraube bewegt hat (im Sinne des Uhrzeigers von hinten gesehen), als Rechtsdrehung oder rechts herum der entgegengesetzte als Linksdrehung bezeichnet werden.

ziehen, die sogenannte Kontraktionslinie, und damit auch die Geißel selbst schraubenförmige Gestalt an. Die Kontraktionslinie ist veränderlich, d. h. sie ändert während der Bewegung fortwährend ihre Lage auf der Geißeloberfläche, sie wandert um dieselbe herum. Dadurch werden die einzelnen Punkte der Geißel fortwährend nach anderen Seiten hin ausbaucht, und man erhält den Eindruck, als rotiere die Geißelschraube um ihre Achse. Naturgemäß kommt auch die Wirkung der Geißel auf den Körper genau auf dasselbe hinaus, als wenn sie wirkliche Rotationen vollführen würde, und der Körper wird infolge der nach der oben angegebenen Weise auf ihn wirkenden Kraftkomponenten vorwärtsbewegt und in Drehung um seine Längsachse versetzt werden.

Délage und Hérouard (57) finden an dieser Darstellung einen Mangel: Rotiert die Geißel in einem bestimmten Sinne, so wird der Körper sich infolgedessen im entgegengesetzten Sinne um seine Längsachse drehen. Dies wäre aber nur möglich, wenn Körper und Geißel sich beliebig gegeneinander verdrehen könnten, wenn sie also durch eine Art Kugelgelenk miteinander verbunden wären. Nach der Organisation der Flagellaten ist dies aber unmöglich, also sei die Auffassung Bütschlis zu verwerfen. Die beiden Autoren unterziehen dann die Vorgänge bei der Geißelbewegung einer eingehenden mathematischen Behandlung und gelangen zu folgender Erklärung der Wirkung der Geißelbewegung auf den Körper: Die Geißel besitzt schraubenförmige Gestalt. Eine Vorwärtsbewegung des Körpers kann nur bei einer Drehung der Geißelschraube um ihre Achse bewirkt werden. Derart kann die Geißel sich aber, wie schon gesagt wurde, nicht drehen. Sie kann bloß Trichterbewegungen ausführen, d. h. Bewegungen, bei denen sie einen Trichter oder Kegelmantel umfährt (vorausgesetzt, daß der Körper am selben Orte verbleibt), dessen Spitze im Ansatzpunkte der Geißel am Körper gelegen ist. Dabei ändert sie fortwährend ihre Orientierung zur Achse des Trichters, sie wendet derselben in jedem Augenblicke eine andere Seite ihrer Oberfläche zu (s. Fig. 7). Die Trichterbewegung der Geißel bedingt keine Vorwärts-, sondern bloß eine Drehbewegung des Körpers. Da die Geißel mit dem Körper aber starr verbunden ist, muß sie dessen Drehbewegung mitmachen, sie dreht sich also um ihre Achse, und erst auf diese Weise kommt die Vorwärtsbewegung des Körpers zustande.

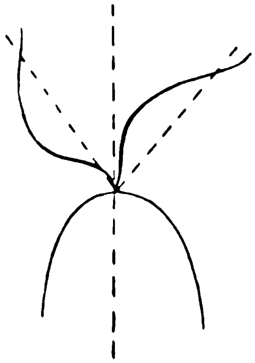


Fig. 7.

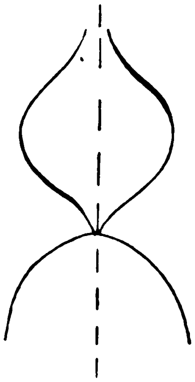


Fig. 8.

Diese Darstellung hat nichts Unnatürliches an sich, und es wäre durchaus denkbar, daß die Vorgänge sich in Wirklichkeit tatsächlich so abspielen würden. Immerhin erscheint sie doch etwas gezwungen, und bei den Bakterien spricht auf jeden Fall der Tatbestand gegen die Auffassungen der beiden französischen Forscher. Man kann bei den Bakterien nämlich jederzeit beobachten, daß die Geißeln Rotationskörper beschreiben, so daß die beiden äußersten Umrißlinien der Geißel stets symmetrisch zur Achse angeordnet erscheinen (s. Fig. 8), und dies ist vor allem auch dann der Fall, wenn der Körper durch Anstoßen an ein Hindernis an der Ausführung der Drehbewegung verhindert ist.

Die Notwendigkeit zu ihrer verhältnismäßig umständlichen Erklärung der Geißelbewegung scheint sich den französischen Forschern überhaupt auf Grund einer mißverstandenen Auffassung der Darlegungen Bütschlis ergeben zu haben. Denn Bütschli zieht den Umstand, daß ein gegenseitiges Verdrehen von Körper und Geißel nicht angängig ist, schon in Betracht, indem er annimmt, daß die Kontraktionslinie um die Geißel herumwandert. Mit dieser Annahme läßt sich aber alles erklären. Umläuft die Kontraktionslinie die Geißeloberfläche z. B. rechts herum, dann wird sich der Körper links herum drehen und wird die Geißel, die mit ihm in fester Verbindung steht, veranlassen, sich ebenfalls im selben Sinne um ihre Achse zu drehen. Diese Drehung braucht aber für die Gesamtwirkung von gar keinem besonderen Einfluß zu sein, denn es ist dann nur nötig, daß sich die Kontraktionslinie eben entsprechend rascher um die Geißel herumbewegt, sodaß dadurch ihre eben erwähnte entgegengesetzte Drehung mit dem Körper wieder ausgeglichen wird. Dann wird schließlich der gleiche Effekt erzielt werden, als wenn diese Drehung der Geißel gar nicht stattfinden würde.

3. Die Geißelbewegung polarbegeißelter Bakterien.

Es ist nun klar, daß diese Betrachtungen im gleichen Maße Gültigkeit sowohl für die Schwärmzellen der Pilze und Algen und für die Flagellaten als auch für die polarbegeißelten Bakterien besitzen müssen.

Technisches.

Um die Bewegungserscheinungen bei den Bakterien, die im folgenden beschrieben werden sollen, zu beobachten, ist es nicht vorteilhaft, die Organismen in einem der gewöhnlichen flüssigen Nährmedien, in denen die Geißeln deutlich zur Erscheinung kommen, wie in Bouillon oder im Agarkondenswasser, zu untersuchen. Denn die Bakterien bewegen sich in diesen Nährflüssigkeiten viel zu schnell, als daß man jede einzelne Phase der Körper- und Geißelbewegung zu unterscheiden vermöchte. Man muß die Bakterien vielmehr in zähflüssige Medien bringen, in denen sie ihre Bewegungen verlangsamen. Am besten hat sich zu diesem Zwecke Nährgelatine von 5-proz. Gelatinegehalt erwiesen. Dieselbe erstarrt allerdings bei Zimmertemperatur und muß zur jedesmaligen Verwendung verflüssigt werden. Will man dies vermeiden, so kann man auch Nährgelatine von 1-proz. Gelatinegehalt in Anwendung ziehen, die sich bei Zimmertemperatur flüssig erhält und infolgedessen allerdings eine etwas dünnflüssigere Konsistenz besitzt. Um die nötige Zähflüssigkeit zu geben, breitet man einen Tropfen davon auf den Objektträger aus und läßt 1—2 Minuten verstreichen, ehe man die Bakterien in denselben einträgt. Inzwischen ist die Flüssigkeit etwas erstarrt und eigne- sich schon besser für den in Aussicht genommenen Zweck.

a) Bewegungserscheinungen bei den Vibrionen.

Die Vibrionen sind zumeist einpolig begeißelt und besitzen fast stets nur eine einzige Geißel an dem betreffenden Pole. Die Geißel ist stets vom Körper weggestreckt und fällt während der Bewegung ungefähr in seine Verlängerung. Der Geißelpol befindet sich bei der Bewegung bald vorne, bald rückwärts und dementsprechend geht die Geißel dem Körper bald voraus, bald folgt sie ihm nach. Die Geißel erscheint stets rechts gewunden. Auf Grund der obigen Annahme würde sich somit ergeben, daß die Kontraktionslinie die stets rechtsgewundene Geißel bald rechts, bald links herum umläuft und daß die Geißel infolgedessen im ersten Falle den Körper nach sich zieht, während sie ihn im zweiten Falle nach vorwärts treibt. Der Körper dreht sich dabei infolge der Rechtsrotation der Geißel jederzeit links herum um seine Längsachse 1). Sind die Vibrionen beidpolig begeißelt, dann erscheinen jeder-

---

1) Dies ist natürlich so zu verstehen, daß man den Körper dabei von hinten betrachtet, so daß er sich vom Beobachter entfernt. Es sei gleich bemerkt, daß in Zukunft

zeit beide Geißeln nach entgegengesetzten Seiten gerichtet, in Betätigung und sie unterstützen sich dabei gegenseitig in ihren Wirkungen auf den Körper.

b) Die Geißelbewegung der Spirillen.

Bei den Spirillen sind die Erscheinungen etwas andere. Diese Bakterien besitzen polare Geißelbüschel und sind teils ein-, teils beidpolig begeißelt. Bei der Bewegung ist stets nur eine verhältnismäßig dicke, zumeist vom hinteren Körperpol entspringende und stets nach rückwärts gerichtete Geißel zu sehen. Man hat es hier immer mit dem sogenannten Zopf zu tun, der durch Aneinanderhaften der Einzelgeißeln des Büschels entsteht. Die Wirkung des Zopfes ist dieselbe, als wenn nur eine einzige Geißel vorhanden wäre, und es wird daher in Zukunft auch bei den Spirillen nur der Fall der Einzelgeißel in Betracht gezogen werden.

Die Geißeln erscheinen jederzeit rechts gewunden. Auch hier geht bei der Bewegung bald der eine, bald der andere Körperpol voraus. Doch ist fast niemals zu beobachten, daß die Geißel dem Körper vorangeht, sie ist vielmehr stets nach rückwärts gerichtet, gleichgültig, ob sie vom vorderen oder vom hinteren Pole entspringt.

Betrachtet man ein einpolig begeißeltes Individuum und nimmt die nach rückwärts gerichtete Geißel ihren Ausgang z. B. vom rückwärtigen Pole, dann rotiert sie rechts herum und infolgedessen wird der Körper in Linksdrehung versetzt und vorwärts getrieben. Ist die Bewegung eine Zeitlang in dieser Weise von statten gegangen, so wird die Geißel plötzlich nach vorn geschnellt, worauf die Bewegung des Körpers sofort nach der entgegengesetzten Richtung umschlägt. Die Geißel, die knapp am Körper entlang verläuft, erscheint ebenfalls rechts gewunden und rotiert, von rückwärts gesehen, rechts herum, also in der entgegengesetzten Weise wie vorher (s. Fig. 9).

Sind die Spirillen beidpolig begeißelt, dann lösen sich die Geißeln in ihrer Betätigung gegenseitig ab, derart, daß stets nur die jeweils am rückwärtigen Pole stehende Geißel betätigt wird. Ist die Bewegung eine Zeitlang unter der Einwirkung der rückwärtigen Geißel von statten gegangen, dann wird plötzlich die vordere Geißel hervorgeschnellt und in Betätigung gesetzt. Der Körper bewegt sich hierauf nach der entgegengesetzten Richtung. Dabei wird die vorher in Bewegung befindliche Geißel, die jetzt völlig in Ruhe verharrt, um den Körper entsprechend der Linksdrehung desselben in linksgängigen Schraubenwindungen aufgewickelt (s. Fig. 10).

Ergeben sich somit bei der Bewegung der Spirillen Verhältnisse, die von denjenigen bei den Vibrionen etwas abweichen, so kann man die ersteren doch auf die letzteren zurückführen. Dies lehrt die Beobachtung von Spirillen, die in zähflüssiger Nährgelatine aufgeschwemmt sind, in der sie sich nur langsam bewegen: Hat bei einem einpolig begeißelten Individuum die Bewegung zunächst in der normalen Weise,

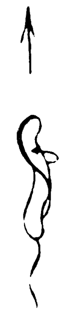


Fig. 10.

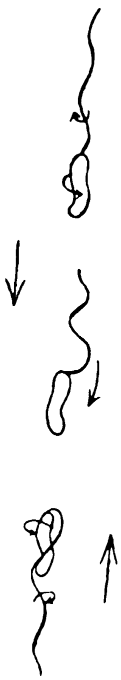


Fig. 9.

---

immer die Bezeichnung für den Rotationssinn derart gelten soll, wenigstens wenn nicht ausdrücklich das Gegenteil bemerkt ist, daß die in Bewegung befindlichen Bakterien dabei von hinten betrachtet werden.

Geißel nach hinten und rechts rotierend stattgefunden, dann fängt die Geißel plötzlich an, links zu rotieren und sich weit auszubauchen. Der Körper wird dabei fast gar nicht oder nur sehr wenig nach der entgegengesetzten Richtung wie vorher (in der Richtung der jetzt vorausgehenden ausgestreckten Geißel) bewegt, indes er lebhafte Rotationen vollführt. Doch dauert dieser Zustand nicht lange an, wahrscheinlich weil die Geißel in diesem Falle zu wenig steif ist, um nach vorne ausgestreckt dem Körper bei der Bewegung vorauszugehen. Sie baucht sich immer mehr aus und wird schließlich um den Körper nach rückwärts geschlungen, worauf die Vorwärtsbewegung wieder in der vorher geschilderten Art von statten geht.

Bei den Vibrionen, wie bei den Spirillen ist der Körper in Form von linksgängigen Schraubenlinien gewunden. Daraus ergibt sich, daß infolge seiner Linksrotation, ähnlich, wie dies auch bei manchen Flagellaten der Fall ist (54), durch seine Gestalt selbst noch ein die Vorwärtsbewegung förderndes Moment gegeben ist.

c) Die Geißelbewegung der Pseudomonaden.

Bei der in Untersuchung gezogenen Pseudomonas-Art, nämlich Ps. cyncyanea, liegen jene Verhältnisse bei der Geißelbewegung, bezüglich deren sich zwischen den Spirillen und Vibrionen gewisse Unterschiede ergeben haben, etwa in der Mitte zwischen denjenigen bei diesen beiden Arten, entsprechend dem Umstande, daß die Pseudomonaden auch in ihrer Körpergröße zwischen die beiden Schraubenbakterienarten zu stehen kommen. Die Geißeln der Pseudomonaden gehen mitunter dem Körper bei der Vorwärtsbewegung voran, so wie dies bei den Vibrionen häufig der Fall ist, doch kommt es auch, vielleicht ebenso oft, vor, daß sie um den Körper nach rückwärts geschlungen werden, wie dies bei den Spirillen zu beobachten ist. Wahrscheinlich dürfte hier die Steifheit der Geißeln ungefähr in die Mitte zwischen diejenige der Geißeln der beiden Schraubenbakterienarten fallen. Die Geißeln sind auch bei den Pseudomonaden in rechtsgängige Schraubenform gewunden und der Körper wird links herum rotiert. Da es sich aber um Stäbchenbakterien handelt, so fällt hier das bei den Schraubenbakterien durch die Körperrotation für die Vorwärtsbewegung noch in Betracht kommende Moment fort.

d) Entstehung der Schraubengestalt der Geißeln.

Was zunächst die Gestalt der Geißeln und ihre Abhängigkeit von der Kontraktionslinie anbelangt, so müssen den diesbezügligen Erklärungen Bütschlis einige Ergänzungen hinzugefügt werden. Man braucht nämlich gar nicht anzunehmen, daß von allem Anfange an gleich eine Kontraktionslinie vorhanden ist, die sich über die ganze Länge der Geißel hin erstreckt und die ihre Lage auf der Geißeloberfläche fortwährend verändert.

Es genügt, wenn man annimmt, daß zunächst an einem Ende der Geißel eine Kontraktion einsetzt, die einerseits auf der betreffenden Querzone der Geißel ihren Fortgang nimmt, andererseits sich von hier aus jeweils auf zur Geißelachse parallelen Längslinien bis zum anderen Ende der Geißel fortpflanzt. Auf diese Weise werden allmählich alle Stellen der Geißeln in Kontraktion versetzt. Da dies aber nur nach und nach geschieht, und die zuerst in Kontraktion versetzte Querzone an dem Geißelende immer der angrenzenden Querzone, und diese wieder der folgenden usw. in der Kontraktionsphase etwas voraus sein wird, so muß die Geißel die Gestalt einer Schraubenlinie annehmen. Die Anzahl der Schraubenwindungen wird dabei von der absoluten Länge der Geißel, sowie von dem Verhältnisse der Geschwindigkeiten abhängen, mit welchen sich die Kontraktionen nach den beiden senkrechten Richtungen fortpflanzen. Die Schraube wird rechts oder links gewunden sein, je nachdem, ob die Kontraktionen von dem einen oder dem anderen Ende der Geißel beginnen und je nach dem Sinne, in welchem sie die Querzonen umlaufen. Denkt man sich z. B. die Geißel vertikal gestellt, und verlaufen die Kontraktionen aufsteigend, und von vorne nach links über hinten nach rechts, dann wird die Geißel in der Art einer rechtsgängigen Schraube gewunden werden, ebenso wenn die Kontraktionen absteigend, jedoch von vorne nach rechts, hinten links verlaufen. In den umgekehrten Fällen werden linksgängige Schrauben entstehen. Hat die Geißel so einmal schraubenförmige Gestalt erhalten und setzen die Kontraktionen ihren Umlauf weiter fort, dann kommt die Erscheinung darauf hinaus, daß an und für sich eine schraubige Kontraktionslinie vorhanden gewesen sei, die ihre Lage an der Geißeloberfläche ständig verändert.

Es erscheint jedoch nicht vorteilhaft anzunehmen, daß eine bestimmte Kontraktionslinie ein für allemal vorhanden ist, deren Ausmaße denjenigen der Geißel zugeordnet sind. Die verschiedenen Gestaltsänderungen, die man z. B. an den Geißeln der Spirillen wahrnehmen kann, lassen vielmehr darauf schließen, daß das Gegenteil der Fall ist und die Kontraktionslinie ihre Gestalt unabhängig von der Geißel verändern kann. Man kann nämlich bei den Spirillen oft beobachten, daß die Geißel an einem und demselben Individuum, je nach der Schnelligkeit der Bewegungen, bald mehr, bald weniger Schraubengänge aufweist. Diese Erscheinung läßt sich mit Hilfe der obigen Erwägungen leicht erklären. Man müßte dann bloß annehmen, daß die Kontraktionen sich im ersten Fall rascher auf Quer- als auf Längslinien fortpflanzen würden, während sich im zweiten Fall der umgekehrte Vorgang vollziehen würde. Es würden mit dieser Annahme auch die Beobachtungen in Einklang zu bringen sein, daß die Kontraktionen bei zur Ruhe gekommenen, am Objektträger ausgeschiedenen Spirillen, die nur stoßweise und langsam die Geißel entlang ziehen, vom Ansatzpunkte der letzteren am Körper aus gegen die Spitze zu ihren Fortgang nehmen.

Auf Grund der soeben gemachten Annahme läßt sich nunmehr ganz allgemein der Satz aussprechen, daß bei polarbegeißelten Bakterien die Kontraktionen bald von der Basis, bald von der Spitze der Geißel beginnen. Die letztere nimmt dabei stets rechtsgängige Schraubenform an, da die Kontraktionen die Geißeloberfläche im zweiten Falle im entgegengesetzten Sinne umwandern wie im ersten. Bei den Bacillen aber konnte stets nur der erste Fall beobachtet werden.

e) Abhängigkeit der Geißelgestalt von der Schnelligkeit der Kontraktionen.

Was nun die mehr oder weniger starke Ausbauchung der Geißel anbelangt, so ist dieselbe wohl aus der verschieden großen absoluten Geschwindigkeit zu erklären, mit der sich die Kontraktionen nach den beiden Richtungen hin fortpflanzen. Es kann wohl angenommen werden, daß die Stärke der Kontraktion oder die Kräfte, durch welche dieselben hervorgerufen werden, an allen Punkten der Geißeln die gleichen sind. Pflanzt sich die Kontraktionslinie dann sehr rasch fort, ändert also die Kontraktionskraft sehr rasch ihre Richtung, dann vermag die Kontraktion an einer einzelnen Stelle und nach einer gewissen Richtung hin die Geißel gar nicht weit auszubiegen, da diese im nächsten Augenblicke schon wieder der Kontraktion nach einer anderen Richtung hin Folge leisten muß, und ferner die auf der Längslinie benachbarten Teile, bei denen die Kontraktionen eben in derselben Richtung wie zuvor an der betrachteten Stelle einsetzen, eine rückziehende Wirkung ausüben werden.

Am besten läßt sich dies an der Hand der Figur 11 erläutern. In der Figur 11 ist das Fortschreiten der Kontraktionen längs einer zunächst gerade gestreckten Geißel von einem mittleren Punkte *A* aus gegen das freie Ende *E* der Geißel perspektivisch dargestellt. Die kleinen Kreise rechts von den Hauptfiguren sollen die Querschnitte der Geißeln an denjenigen Punkten darstellen, in deren Höhe sie sich befinden. Sie seien von oben betrachtet, d. h. von einem Punkt oberhalb von *E*. Die Pfeile am Umfange eines jeden Kreises geben den Umwanderungssinn der Kontraktionen an, die Spitzen der Pfeile, die Stellen, bis zu welchen die letzteren in dem dargestellten Augenblicke vorgeschritten sind. Die senkrecht zum Umfange gezeichneten Pfeile deuten die Richtung an, nach welchen die Geißel an den betreffenden Stellen infolge der dort einsetzenden Kontraktionen ausgebogen wird.

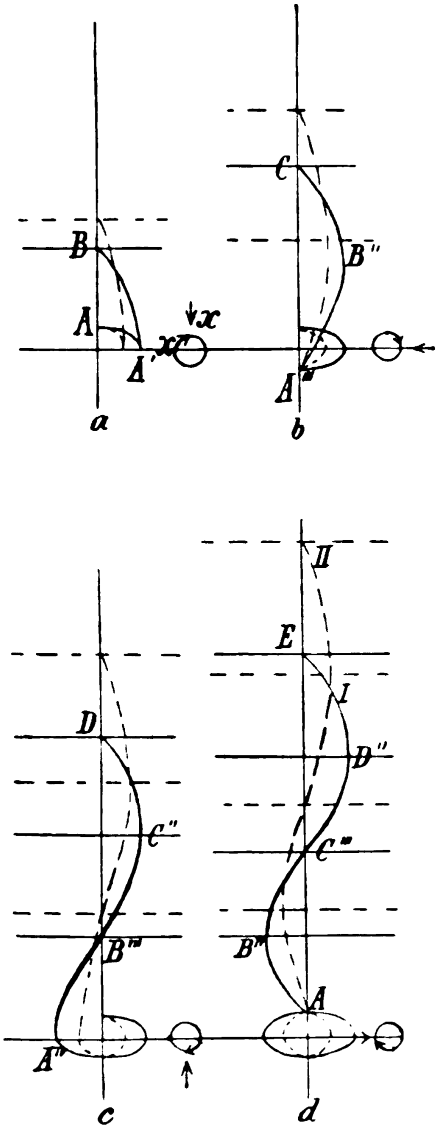


Fig. 11.

Ist also in Figur 11a die Kontraktion in der Längsrichtung der Geißel so weit vorgeschritten, daß sie eben im Punkte *B* einsetzt, dann hat sie am Geißelumfang bei *A* die Strecke *X X'* umwandert, der Geißelpunkt *A* selbst ist dabei längs eines Kreisbogens nach *A'* gelangt. In den Figuren b, c, d ist dann der weitere Verlauf der Bewegungen immer je um eine Viertelphase weiter vorgerückt, dargestellt. In einem Falle I, bei welchem die Kontraktionen verhältnismäßig langsam vorschreiten, nimmt die Geißel die Form der voll ausgezogenen, weit ausgebauchten Schraubenlinie an. Pflanzen sich dagegen die Kontraktionen rascher fort, etwa wie im Falle II doppelt so rasch, wie vorher, dann wird in dem Augenblicke, in welchem das erste Phasenviertel erreicht ist (Fig 11a), die Stelle bei *A* nur halb so stark ausgebaucht sein, da sie dem Kontraktionsimpulse nach einer bestimmten Richtung nur halb so lange Folge leisten konnte. Die Geißel wird mithin die strichlierte steiler gewundene und weniger stark ausgebauchte Schraubenform annehmen.

Hieraus ergibt sich ohne weiteres die gewünschte Erklärung: Arbeitet die Geißel rascher, d. h. pflanzen sich die Kontraktionen schneller fort, dann erhält die Geißel eine flachere, länger gestreckte Form, gleichzeitig wird aber der Körper infolge der gesteigerten Geißeltätigkeit in raschere Bewegung versetzt werden.

Dieses Ergebnis stimmt vollkommen mit dem überein, was die Beobachtungen lehren. Denn wie erwähnt, erscheinen in ein und demselben Medium bei rascher Bewegung der Bakterien die Geißeln stets viel flacher und weniger ausgebaucht, als bei langsamer Bewegung. Ebenso beobachtet man, daß die Geißel in zähflüssigen Medien äußerst flachgestreckt wird, obwohl der Körper in diesem Falle infolge des großen Widerstandes, den er bei der Bewegung erfährt, nur verhältnismäßig langsam vorwärts kommt. Aber die Kontraktionen durch die Geißeln pflanzen sich jedenfalls sehr rasch fort, was der intensiven Tätigkeit der Geißeln entspricht.

Aehnliche Verhältnisse zeigen sich auch bei den Vibrionen und allen anderen Bakterienarten.

f) Das seitliche Abweichen des Körpers von der Bahn der Vorwärtsbewegungen (die Trichterbewegung).

Es wurde schon im vorhergehenden bemerkt, daß die Vorwärtsbewegung der polarbegeißelten Bakterien im allgemeinen mit Drehbewegung um die Längsachse des Körpers verbunden ist. Diese Bewegung möge in Hinkunft als Achsendrehung des Körpers bezeichnet werden. Dabei kommt es aber zumeist vor, daß die Körperachse nicht in der Bahn der Vorwärtsbewegung verbleibt, sondern daß sie seitlich davon etwas abweicht. Die beiden Körperpole beschreiben im allgemeinen Kreise, und der Körper umfährt einen Doppelkegel, dessen Spitze ungefähr in der Körpermitte gelegen ist (d. h. wenn man annimmt, daß der Körper am selben Ort verbleiben würde). Bei der Vorwärtsbewegung beschreiben die Körperpole Schraubenlinien, der Körper selbst umfährt Schraubenflächen. Diese Art der Seitenabweichung des Körpers, die man als „Trichterbewegung“ bezeichnen kann, kommt wohl bei allen einzelligen Organismen vor, die sich mit Hilfe von Geißeln vorwärtsbewegen.

Nägeli (49) tut derselben bei der Beschreibung der Bewegung von Bakterien und von Schwärmzellen der Algen und Pilze in der folgenden Weise Erwähnung: Die Drehung der Schwärmzellen geht vor sich 1) um die eigene (Längs-)Achse, 2) um eine ideale Achse (die Bahn, in der sie sich vorwärts bewegen), wobei die wirkliche Körperachse der idealen parallel läuft, 3) ebenfalls um die Bahn als ideale Achse, das vordere Ende der wirklichen Achse ist aber weiter von der idealen Achse entfernt, als das hintere Ende, dessen Abstand möglicherweise gleich Null ist.

Genau dieselben Erscheinungen beobachtet man bei den Spirillen sowie überhaupt bei den polarbegeißelten Bakterien. Es kommt bei diesen noch der Fall 3b hinzu, daß das hintere Ende der wirklichen Achse weiter von der idealen Achse entfernt ist, als das vordere und der Uebergang von dem einen der beiden zuletzt erwähnten Fälle zum anderen, nämlich 3c, daß beide Enden der wirklichen Achse gleichweit von der idealen Achse entfernt sind.

Nägeli bemerkt dann weiter, daß in den Fällen 2 und 3, in welchen die Körperenden Schraubenlinien beschreiben, einem Umlaufe um die Schraube, stets eine Drehung des Körpers um die Achse entspricht, sodaß die nämliche Zellenseite stets nach außen gekehrt ist. Auch dies trifft bei den polarbegeißelten Bakterien zu.

Man könnte diese Vorgänge vielleicht zweckmäßig auch in der folgenden Form beschreiben: Bei den polarbegeißelten Bakterien findet bei der Vorwärtsbewegung stets Drehung des Körpers um seine Längsachse statt. Dabei kann die Längsachse

1. in der Bahn der Vorwärtsbewegung verbleiben;
2. um die Bahn als Achse rotieren, so daß sie dieser stets parallel bleibt;
3. ebenfalls um die Bahn als Achse rotieren, sie bleibt derselben jedoch nicht parallel:
    a) das vordere Ende der Längsachse weicht mehr von der Bahn ab als das hintere,
    b) das hintere Ende weicht mehr ab als das vordere,
    c) beide Enden bleiben gleich weit von der Bahn entfernt.

Nägeli knüpft dann an seine Beobachtungen die Betrachtung, es sei ihm nicht im geringsten zweifelhaft, daß die Schwärmzellen bei vollkommen regelmäßiger Körperform, bei symmetrischer Verteilung der Masse und bei Homogenität des Mediums in einer geraden Linie dahinschwimmen würden, und daß alle die Abweichungen sowohl rücksichtlich der Achsendrehung als der Fortbewegungsbahn davon herrühren, daß die Körper der Schwärmzellen nicht symmetrisch gebaut sind, ihre Schwerpunkte nicht im Zentrum liegen, und daß sie in dem Medium, in dem sie sich befinden, nicht ringsum gleichmäßige Reibungswiderstände erfahren. Dieser Anschauung schließt sich Bütschli vollkommen an, und er unterstützt dieselbe noch durch die Bemerkung, daß zahlreiche Flagellaten asymmetrischen Körperbau aufweisen, durch welchen die Abweichung des Körpers von der Bahn der Vorwärtsbewegung erklärlich erscheint.

Es ist nicht anzuzweifeln, daß diese Umstände alle einen gewissen Einfluß auf die Art der Bewegung der Schwärmzellen haben werden, doch können sie beim Zustandekommen der Trichterbewegung des Körpers nicht allein ausschlaggebend sein. Die Inhomogenitäten des Mediums kommen wohl kaum dafür in Betracht. Da dieselben ganz ungleich verteilt sein würden, könnten sie zum mindesten keine gleichmäßigen Abweichungen des Körpers hervorrufen. Die Spirillen wie überhaupt die Bakterien erscheinen durchweg symmetrisch gebaut, und das Abweichen von der Bahn findet bei Individuen, deren Inneres eine vollkommen gleichmäßige Verteilung der Körner und Kugeln aufweist, genau in derselben Weise statt, wie bei solchen mit ungleichmäßiger Verteilung. Und vor allem kann man beobachten, daß ein und dasselbe Individuum bald stärkere, bald schwächere Schwankungen vollführt, je nach der Schnelligkeit, mit der es sich vorwärtsbewegt.

Die Trichterbewegung ist also sicher nicht auf derartige mehr oder weniger zufällige Umstände, wie sie oben erwähnt wurden, zurückzuführen, sie ist vielmehr durchaus in der Art der Geißelbewegung begründet, und sie wird dabei fast stets mehr oder weniger stark in Erscheinung treten. Ihre Ursache scheint aber allgemein, so auch von Bütschli und Nägeli, verkannt worden zu sein.

Um auf diese Ursachen näher eingehen zu können, muß nochmals die Einwirkung einer rotierenden, schraubenförmig gewundenen Geißel auf den Körper in Untersuchung gezogen werden. Wie schon erwähnt, hat Bütschli diese Einwirkung in der Weise dargestellt, daß durch den Widerstand, den die Geißel bei ihrer Bewegung in der Flüssigkeit erfährt, ein auf sie rückwirkendes Kraftmoment PA (Fig. 6) hervorgerufen wird, welches sich in zwei Komponenten zerlegen läßt, von denen die eine in die Körperachse fallende PB die Vorwärts-, die andere dazu

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

senkrechte PC die Drehbewegung des Körpers um seine Längsachse bewirkt. Nun wird die Komponente PC, da sie ihre Richtung fortwährend in rascher Aufeinanderfolge ändert, ja tatsächlich die Achsendrehung des Körpers zuwege bringen. Sie wird gleichzeitig aber auch eine Drehung um eine zur Längsachse senkrechte Achse hervorrufen, die ein Abweichen des Körpers von der Bahn der Vorwärtsbewegung bedingen wird. Mit einem Worte, die zur Längsachse senkrecht wirkende Kraftkomponente, die in Zukunft als Querkomponente bezeichnet werden möge, ist auch die Ursache der Trichterbewegung.

Eine an einem freibeweglichen Körper wirkende Kraft wird nämlich im allgemeinen keine Drehung hervorbringen. Dazu ist ein Kräftepaar nötig. Kräftepaare entstehen bei der Rotation der Geißel zunächst durch die Querkomponenten, die an je 2 um eine halbe Schraubenganghöhe voneinander abstehenden Geißelpunkten einsetzen, da man wohl annehmen kann, daß die an verschiedenen Geißelpunkten wirkenden Querkomponenten untereinander gleich sind, ferner, daß ihre Angriffspunkte untereinander (nämlich durch die Geißel) in starrer Verbindung stehen.

Ein solches Kräftepaar ist in Fig. 12 perspektivisch dargestellt. Es läßt sich in zwei senkrechte Komponentendrehpaare zerlegen. Um diese Zerlegung leicht bewerkstelligen und die Wirkung der Drehpaare sich leicht vergegenwärtigen zu können, zieht man am besten die Achsen der Drehpaare zu Hülfe. Als „Achse eines Drehpaares“ wird eine zur Ebene desselben senkrechte Gerade bezeichnet, die von dieser Ebene aus nach jener Seite verläuft, von der aus gesehen die vom Drehpaar hervorgerufene Drehung im Uhrzeigersinne erfolgt, und deren Länge gleich ist dem Momente des Drehpaares. Die Achse *a b* des in der Figur gezeichneten Drehpaares läßt sich in die beiden Komponenten *a c* und *a d* zerlegen, von denen die eine mit der Längsachse des Körpers zusammenfällt und in die Richtung gegen das geißellose Körperende zu verläuft, während die andere senkrecht dazu gerichtet ist. Für je zwei weitere Punkte der Geißel, die in derselben Weise voneinander abstehen, läßt sich genau dieselbe Konstruktion durchführen. Nun kann man ein Kräftepaar sowohl in eine beliebige parallele Ebene verlegen, als auch in derselben Ebene beliebig verschieben und drehen. Alle Drehpaarkomponenten lassen sich somit derart in den Körper verlegen (da man die Geißel mit dem Körper als starr verbunden ansehen kann), daß die Mittelpunkte ihrer Arme mit der Körpermitte zusammenfallen. Die Drehpaarkomponenten, deren Achsen mit der Längsachse des Körpers zusammenfallen, summieren sich einfach und bewirken die Achsendrehung des Körpers. In dem in der Figur 12 dargestellten Falle wird der Körper so gedreht werden, daß die Drehung von der Geißelseite aus gesehen, entgegengesetzt dem Uhrzeiger (nach links herum) erfolgt. Die Achsen der anderen Drehpaarkomponenten schließen jeweils einen kleinen Winkel miteinander ein. Sie lassen sich alle zu einer Resultierenden zusammensetzen.

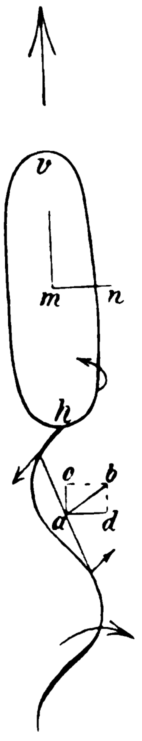


Fig. 12.

Besitzt die Geißel gerade eine volle Schraubenwindung, dann schließen die Achsen der beiden äußersten Drehpaare einen Winkel von 180° miteinander ein. Die Achse des resultierenden Kräftepaares wird also senkrecht zu diesen beiden Achsen stehen, und die einzelnen Komponenten werden einen verschieden großen Beitrag zur Resultierenden liefern, je nach dem Winkel, welchen ihre Achse mit der resultierenden Achse einschließt. Ist die Achse des resultierenden Drehpaares *mn* wie in der Figur 12 gerade horizontal und nach rechts gerichtet, dann wird der Körper um diese Achse im Uhrzeigersinne von der Achsenseite aus gesehen gedreht werden, also derart, daß sein hinteres Ende *h* sich nach oben, das vordere *v* nach unten bewegt. Diese Drehung wird aber nicht lange in derselben Ebene vor sich gehen. Infolge der Rotation der Geißel wird auch die Achse des resultierenden Kräftepaares im selben Sinne wie die Geißel in Rotation versetzt werden, und zwar um so rascher, je schneller die Geißeldrehung erfolgt. Die Querdrehung des Körpers wird also in jedem Augenblicke sich in einer anderen Ebene vollziehen.

Erfolgt die Rotation der Geißel, von der Geißelseite aus gesehen, im Uhrzeigersinne oder rechts herum, dann wird nach Ablauf einer Vierlelphase die Achse des resultierenden Drehpaares ebenfalls rechts herum um 90° gedreht worden sein, also vertikal nach abwärts stehen. Das vordere Körperende wird dann, von oben gesehen, nach links, das hintere nach rechts bewegt werden. Nach einer weiteren Vierteldrehung, wenn die Achse wieder horizontal, aber nach links gerichtet ist, wird das hintere Körperende gesenkt, das vordere gehoben werden usw.

Es erhellt also, daß jedes Körperende einen Kreis rechts herum, die Körperhälften selbst je einen Kegel beschreiben werden, deren Spitzen in der Körpermitte zusammenstoßen (falls der Körper an derselben Stelle verharrt). Bewegt sich der Körper vom Orte, dann beschreiben seine Pole Schraubenlinien, er selbst umfährt Schraubenflächen, und zwar stets in demselben Sinne, in welchem die Geißelrotation erfolgt.

Besitzt die Geißel aber keine volle Anzahl von Schraubenwindungen, etwa nur eine ungerade Anzahl halber Schraubengänge, dann wird stets eine gewisse Anzahl von Punkten an der Geißel übrig bleiben, zu deren zur Schraubenachse senkrechten (Quer-)Komponenten keine gleichen und entgegengesetzt gerichteten Kräfte vorhanden sind, mit denen sie Kräftepaare bilden könnten.

Aber durch eine Hilfskonstruktion lassen sich auch für diese Kräfte Drehpaare zusammenstellen. Betrachtet man die an einem gewissen Geißelpunkte *A* in Fig. 13 schräg nach aufwärts gerichtete Kraftkomponente *AB*, so kann man, wie schon erwähnt, ihren Angriffspunkt *A* als mit dem Körper in starrer Verbindung stehend ansehen. Im Mittelpunkte des Körpers kann man dann zwei Kräfte annehmen, die beide parallel und gleich groß, mit der Kraft *AB* aber nach entgegengesetzten Seiten gerichtet sind, so daß ihre gegenseitige Wirkung auf den Körper gleich Null ist. Die eine dieser Kräfte *OM*, die nach der entgegengesetzten Richtung wie *AB* wirkt, kann man mit dieser letzteren zu einem Kräftepaare zusammensetzen. Die Achse desselben wird in dem dargestellten Falle schräg nach abwärts und gegen das geißellose Körperende zu gestellt sein. Diese Achse bzw. das ganze Drehpaar läßt sich wieder in zwei Komponenten zerlegen, von denen die eine *GH* in die Längsachse des Körpers fällt, die andere *GJ* senkrecht dazu steht.

Dieselbe Konstruktion läßt sich für sämtliche alleinstehende Querkomponenten durchführen (für welche keine Gegenkräfte an Geißelpunkten zur Bildung von Kräftepaaren zu finden sind). Die Kräftepaare kann man wieder wie vorher derart in den Körper verlegen, daß ihre Achsen von der Körpermitte ausgehen, und zu Resultierenden zusammensetzen. In diesem Falle werden aber, nicht wie dies bei der vorhergehenden Betrachtung in Erscheinung trat, alle Kräftepaare gleich groß sein, vielmehr nimmt ihre Wirkung mit dem Abstande der Angriffspunkte der Querkomponenten von der Körpermitte ständig zu. Doch nimmt dabei auch der Winkel α zu, den die Achsen der Kräftepaare mit der Verlängerung der Körperachse einschließen. Dementsprechend werden die die Achsendrehung des Körpers (die Drehung um die Längsachse) bewirkenden Drehpaarkomponenten, deren Achsen in die Körperachse fallen, nur bedeutend langsamer anwachsen, wie die dazu senkrechten Komponenten, welche die Querdrehung (Trichterbewegung) des Körpers verursachen. Diese Geißelpunkte liefern also einen überwiegenden Beitrag zur Trichterbewegung.

Die Komponenten der beiden eben erwähnten Drehpaargattungen lassen sich wieder untereinander als auch mit den entsprechenden auf die früher dargestellte Weise erhaltenen Komponenten zu Resultierenden zusammensetzen, von denen die eine die Achsendrehung, die andere die Trichterbewegung des Körpers genau wie in dem früher betrachteten Fall bedingt. Es ergibt sich also, daß die Trichterbewegung stärker dann zum Vorschein kommen wird, wenn die Geißel keine volle Anzahl von Schraubenwindungen besitzt, als wenn das letztere der Fall ist, und zwar bei ein und derselben Geißel am stärksten dann, wenn eine ungerade Anzahl halber Schraubengänge vorhanden ist; in allen anderen Fällen aber geringer. Ferner wird dieser Umstand um so mehr zur Geltung kommen, je länger die Geißel ist.

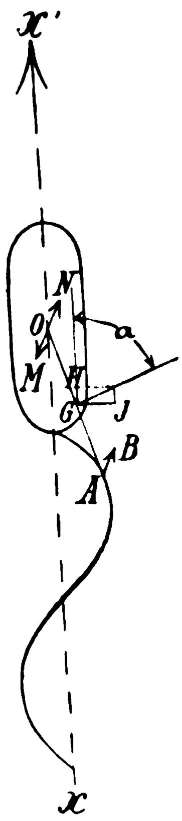


Fig. 13.

Es ist noch die Wirkung der bei der Hilfskonstruktion für die alleinstehenden Querkomponenten übrig gebliebenen, an der Körpermitte angreifenden Kraft ON zu betrachten, durch welche die eben besprochenen Verhältnisse etwas geändert werden. Dieselbe bewirkt eine Parallelverschiebung des Körpers, für den Fall, daß sie ihre Richtung beibehält. Alle derartigen Kräfte lassen sich zu einer Resultierenden zusammensetzen, die ihre Richtung fortwährend ändert, und zwar entsprechend der Rotation der Geißel in gleichem Sinne, in dem die Rotation erfolgt. Die Kraftrichtung wird sich in einer zur idealen Achse XX' senkrechten Ebene um diese Achse drehen, und zwar im selben Sinne, in dem die Geißelrotation erfolgt. Infolgedessen würde der Körper, wenn er außer von den die Vorwärtsbewegung und Achsendrehung bedingenden Kräften nur noch der zuletzt erwähnten Einwirkung unterworfen wäre, sich längs eines Zylindermantels parallel zu sich selbst und zur Zylinderachse bewegen, derart, daß jeder seiner Punkte Schraubenlinien beschreibt. In Wirklichkeit wird sich diese Bewegung aber mit der Trichterbewegung übereinanderlagern, dabei wird, je nachdem welche Phasenzustände dieser beiden Bewegungen sich gerade kombinieren, bald der vordere Pol des Körpers mehr von der

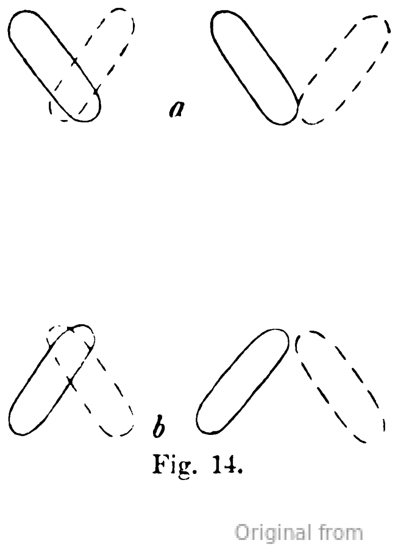


Fig. 14.

Bahn abweichen als der hintere (Fig. 14a), bald der umgekehrte Fall eintreten (Fig. 14b) Es ist den obigen Ausführungen noch hinzuzufügen, daß beim Zustandekommen einer regelmäßigen Trichterbewegung je einer Rotation der Geißel auch ein voller Umlauf des Körpers um den Trichter erfolgt, und da der Körper stets mit der gleichen Seite nach außen gewendet erscheint, so muß gleichzeitig auch je eine volle Achsendrehung des Körpers stattfinden. Doch kommen auch Ausnahmen hiervon vor, von denen weiter unten noch die Rede sein wird.

Es ist nun ganz klar, daß der Ansatzpunkt der Geißel die Trichterbewegung des Körpers mitmachen und somit die ganze Geißel in eine andere Stellung zum Körper gelangen, also ebenfalls eine Trichterbewegung vollführen muß, derart, daß die Basis des dem Körper zugewendeten Trichters mit derjenigen des vom hinteren Körperende beschriebenen Kegels zusammenfällt.

Durch die Trichterbewegung der Geißel wird auch diejenige des Körpers noch eine gewisse Beeinflussung erfahren, und zwar wird letztere entweder verstärkt oder abgeschwächt werden. Es wird dies davon abhängen, welche Stellung die Geißel bei einer bestimmten Phase der Geißelrotation zum Körper gerade einnimmt bezw. abhängig sein von der Größe des Phasenunterschiedes zwischen der Geißelrotation und der Trichterbewegung der Geißel.

Am besten läßt sich dies wieder an der Hand einer Figur darstellen. Steht die Geißel wie in Fig. 15 z. B. nach links, in Bezug zur Verlängerung der Körperachse und besitzt die Achse der Resultierenden der Drehpaare gerade die in der Fig. 15 unter *MN* bezeichnete Lage, dann wird ihre in die Körperachse fallende Komponente sehr groß, die dazu senkrechte Komponente klein sein. Die Achsendrehung des Körpers wird also verstärkt, die Trichterbewegung abgeschwächt werden. Dasselbe Verhältnis ergibt sich, wenn man die um $^1/_4$, $^1/_2$ (s. Fig 15 *M'N'*) und $^3/_4$ Phasen verschobenen Lagen ins Auge faßt. Ist die Achse der Resultierenden jedoch wie in Fig. 15 *RS* gerichtet, dann ergibt sich für diesen Fall eine Verstärkung der Trichterbewegung und eine Schwächung der Achsendrehung. Dasselbe ergibt sich, wenn auch in geringerem Maße, für die beiden in der Fig. 16a, b in Betracht gezogenen Fälle.

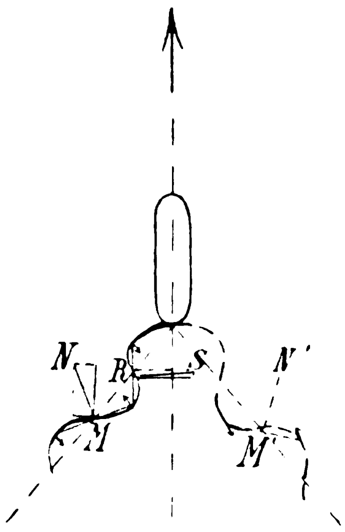


Fig. 15.

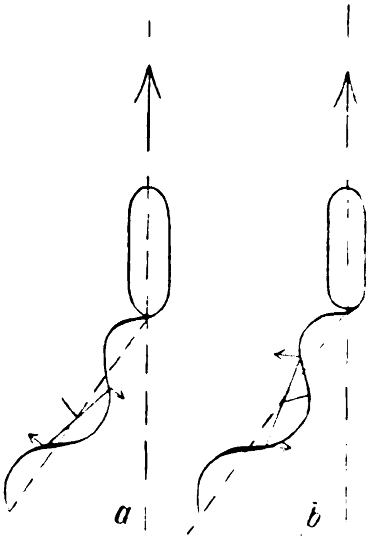
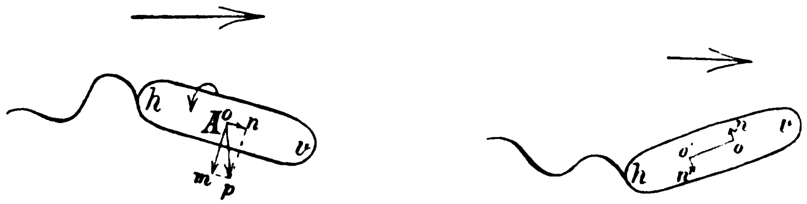


Fig. 16.

g) Umstände, von denen die Stärke der Trichterbewegung abhängig ist.

Nun ist es klar, daß infolge der Rotation des Körpers um seine Längsachse dem Bestreben, die Lage der Drehungsachse zu verändern, ein gewisser Widerstand entgegengesetzt werden wird. Der Widerstand wird um so größer sein, je schneller die Achsendrehung stattfindet. Es wird dadurch eine Kraft hervorgerufen werden, welche eine Kreisel- oder Präzessionsbewegung des Körpers bedingen würde, falls die Kraft, welche die Abweichung der Rotationsachse verursacht, stets nach derselben Richtung wirken würde. Das letztere ist aber nicht der Fall, vielmehr ändert diese Kraft gleichzeitig mit der Rotation der Geißel fortwährend ihre Richtung. Die Kraft, welche die Kreiselbewegung verursacht, wird stets senkrecht stehen zu derjenigen, welche die Abweichung des Körpers bedingt.

Man kann sich die Verhältnisse leicht auf die folgende Weise klar machen: Ist in einem gewissen Augenblicke die Achse des Drehpaares, welche die Seitenabweichung der Körperachse bewirkt, horizontal und nach rechts gerichtet und betrachtet man den Körper von der rechten Seite aus, dann wird sich sein hinteres Ende h (Fig. 17a) heben, das vordere Ende v senken. Die Achsendrehung des Körpers findet von hinten gesehen rechts herum statt (im Sinne des Pfeiles). Dann werden alle Körperteilchen, die sich nicht gerade in der Körperachse oder in einer vertikalen durch die letztere gelegten Ebene (der Zeichenebene in Fig. 17a) befinden, gezwungen werden, ihre Bewegungsrichtung zu ändern. Betrachtet man z. B. ein Teilchen A am Umfange des Körpers, so wirkte an ihm ursprünglich eine Kraft op. In der neuen Lage des Körpers (Fig. 17a) kommt nur mehr deren Komponente om für die Achsendrehung in Betracht. Die andere Komponente on gibt in Verbindung mit der entsprechenden entgegengesetzt gerichteten Kraftkomponente, welche am diametral gegenüberliegenden Punkte derselben Querzone wirkt, ein Drehpaar. Dieses wird eine Querdrehung (Seitenabweichung) des Körpers verursachen, so daß das hintere Ende des Körpers nach rechts, das vordere nach links bewegt wird. (Siehe Fig. 17b, in der das Drehpaar $no\ o'\ n'$ um 90° in seiner Ebene entgegengesetzt dem Uhrzeiger gedreht ist.) Genau dieselben Betrachtungen ergeben sich in allen anderen Lagen bezw. bei allen anderen Phasen der Körperbewegung.



a (Seitenansicht). Fig. 17. *b* (Draufsicht).

Die ursprüngliche Trichterbewegung wird sich also kombinieren bezw. bei sehr rascher Rotation der Geißel völlig ersetzt werden durch eine ebensolche Bewegung, die um $\frac{1}{4}$ Phase hinter der ersteren zurück ist. Durch den Widerstand infolge der Achsendrehung des Körpers wird also die Trichterbewegung kaum verringert werden. Nun findet die Trichterbewegung, wie schon früher ausgeführt wurde, im gleichen Takte mit der Geißelrotation statt, d. h. jeder vollen Geißelrotation entspricht auch ein voller Umlauf des Körpers um den Trichter, infolgedessen wird bei rascherer Geißelrotation die Kraft, welche die Seitenabweichung bewirkt, auch viel rascher ihre Richtung ändern, und da sie also viel kürzere Zeit nach einer bestimmten Richtung wirkt, eine geringere Seitenabweichung verursachen. Und hauptsächlich aus diesem Grunde wird die Trichterbewegung bei rascherer Vorwärtsbewegung des Körpers eine Abschwächung erfahren.

h) Abhängigkeit der Schnelligkeit der Körperbewegung von den Ausmaßen des Körpers und der Geißel.

Es wurde im Vorhergehenden die durch die Betätigung der Geißel verursachte Bewegung des Körpers besprochen, ohne daß auf die Ausmaße von Körper und Geißel irgendeine besondere Rücksicht genommen worden wäre. Nun wäre man im allgemeinen geneigt, anzunehmen, daß bei einer gewissen Länge und Gestalt des Körpers der letztere in um so raschere Bewegung versetzt werden würde, je länger die Geißel ist, die an ihm wirkt, und je mehr Kraftkomponenten infolgedessen an ihm einsetzen, und bei gleichbleibender Länge der Geißel, je geringer die Ausmaße des Körpers sind.

Die letztere Annahme kann man allgemein bestätigt finden, die Bewegung geht durchwegs mit steigender Körperlänge langsamer von statten. Ferner beobachtet man, daß Spirillen, die stark schraubig ausgebaucht (sehr flach gewunden) sind, ganz allgemein langsamere Vorwärtsbewegung vollführen, als steiler gewundene Individuen. Dies ist wahrscheinlich deswegen der Fall, weil die ersterwähnten Spirillen bei der Bewegung einen bedeutend größeren Widerstand erfahren, als die zuletzt genannten, obwohl im ersteren Falle das infolge der schraubenförmigen Körpergestalt für die Vorwärtsbewegung des Körpers in Betracht kommende Moment ein größeres ist.

Was die erste Annahme anbelangt, nämlich, daß die Spirillen von gleicher Länge und gleicher Gestalt sich um so rascher vorwärts bewegen sollen, je länger ihre Geißel ist, so hat dieselbe nur bis zu einem gewissen Maße Gültigkeit. Man kann nämlich tatsächlich beobachten, daß im allgemeinen wenigstens bis zu einer gewissen absoluten Länge der Geißel (etwa bis zu 24 μ, wobei die Geißel bei normaler Form in zwei Schraubenumgänge gewunden ist) mit zunehmender Geißellänge auch eine raschere Bewegung des Körpers erfolgt. So bekommt man in frischen Kulturen mitunter Individuen zu sehen, die an einem Pole eine lange (11 μ), am anderen Pole eine noch ganz kurze (3 μ lange) Geißel besitzen. Die lange Geißel befindet sich je nach der Richtung, nach welcher die Bewegung des Körpers von statten geht, abwechselnd nach rückwärts ausgestreckt in Betätigung, oder in Ruhe um den Körper geschlungen, sowie dies im Vorhergehenden bereits geschildert wurde. Die kurze Geißel aber bleibt immer ausgestreckt und verharrt fortwährend in Betätigung. Wird der Körper durch die lange, am hinteren Ende befindliche Geißel vorwärts getrieben, so bewegt er sich viel rascher, trotz der entgegengesetzten Einwirkung der kurzen Geißel, als wenn die letztere ihn allein und entsprechend nach der entgegengesetzten Richtung bewegt. Tritt, nachdem der eben genannte Zustand eine Zeitlang vorgeherrscht hat, plötzlich die lange Geißel, die auf einmal vorgeschnellt wurde, in Funktion, so daß die Bewegung sofort nach der entgegengesetzten Richtung umschlägt, dann findet die Drehung im entgegengesetzten Sinne wie vorher im ersten Augenblicke nur langsam statt, obwohl die Vorwärtsbewegung sogleich ihre volle Schnelligkeit erreicht, bis dann nach einer kurzen Weile auch die Drehbewegung in normaler Weise einsetzt. Es ist, als müßte erst ein gewisser Widerstand überwunden werden. Ja, wenn beim allmählichen Austrocknen des Präparates die Bewegung der Spirillen nur mehr langsam von statten geht, dann kommt es mitunter vor, daß der Körper in dem zuletzt geschilderten Falle nur vorwärtsgleitet, ohne sich zu drehen. Dieser Umstand scheint darauf hinzuweisen, daß die längere

Geißel zwar eine überwiegende Wirkung auf die Vorwärtsbewegung des Körpers ausübt, nicht aber in gleichem Maße auch auf seine Achsendrehung.

Erreicht die Geißel eine absolute Länge, die über das mittlere Maß von etwa 24 μ hinausgeht, dann beobachtet man, daß mit wachsender Geißellänge keine weitere Steigerung der Körpergeschwindigkeit eintritt. Ja, im Gegenteil, es setzt dann sogar ganz allgemein eine Verlangsamung und vor allem auch ein öfteres Aussetzen der Bewegung ein. So findet man in älteren flüssigen Kulturen stets verhältnismäßig kurze, kommaartige Spirillen, die nur an einem Pole begeißelt sind, deren Geißeln aber ganz enorme Längen erreichen, die diejenige des Körpers um das 3—4-fache übertreffen. Diese Spirillen drehen und bewegen sich bei weitem nicht so rasch vorwärts, als es der Länge der Geißeln entsprechen würde. Außerdem findet die Bewegung nur absatzweise mit steten regelmäßigen Unterbrechungen statt. Auf eine Bewegung von kurzer Dauer folgt eine kurze Ruhepause, der wieder Bewegung folgt usw. Diese Erscheinung dürfte wohl so zu deuten sein, daß bei der abnormen Länge der Geißel, schon um diese selbst in Bewegung zu setzen, soviel Energie verbraucht wird, daß die Bewegung nur langsam erfolgen kann. Infolge der dabei eintretenden stärkeren Ermüdung des kontraktilen Plasmas müssen stete Ruhepausen stattfinden. Andererseits ist hier auch noch der Umstand zu berücksichtigen, daß die älteren Individuen mit den langen Geißeln schon an und für sich nicht mehr so lebensfrisch sind.

i) Das Umkehren des Körpers bei der Bewegung.

An derartigen Spirillen kann man sehr interessante Beobachtungen machen über die Art, in der das Umkehren des Körpers zustande kommt. Bereits im Vorhergehenden wurde beschrieben, in welcher Weise einpolig begeißelte Spirillen ihre Bewegung umkehren. Die vom rückwärtigen Ende entspringende und nach rückwärts gerichtete Geißel wird plötzlich nach vorne geschnellt und dann in der entgegengesetzten Weise wie vorher rotiert, so daß der Körper mit nunmehr vom vorderen Ende nach rückwärts verlaufender Geißel nach der entgegengesetzten Richtung getrieben wird. Fand die Bewegung indes schon von vornherein in der zuletzt genannten Weise statt, so vollzieht sich der umgekehrte Vorgang. Bei diesen Vorgängen, die hauptsächlich bei Spirillen mit Geißeln von mittlerer Länge (8—24 μ absolut) zu beachten sind, findet also kein Umkehren des Körpers statt. Ist die Geißel aber sehr lang (etwa über 24 μ), dann nehmen die Vorgänge einen anderen Verlauf:

Es wurde schon bemerkt, daß bei Spirillen mit sehr langen Geißeln eine allmähliche Ermüdung der letzteren wahrzunehmen ist, so daß die Bewegung häufig aussetzt. Ferner wurde schon früher darauf hingewiesen, daß bei langsamer Vorwärtsbewegung des Körpers die Trichterbewegung bedeutend stärker einsetzt, der Körper also in starke seitliche Schwankungen versetzt wird. So ist auch hier bei den kurzen Individuen mit 3—4mal längerer Geißel zu beobachten, daß die Körperbewegung beim Ermüden der Geißel allmählich verlangsamt wird. Der Körper schwankt ähnlich wie ein zur Ruhe kommender Kreisel immer mehr und mehr zur Seite, er schließt Winkel von 90° und mehr mit der Bahn der Vorwärts-

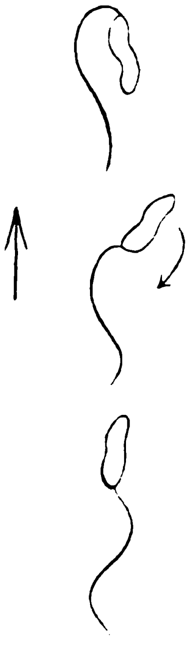


Fig. 18.

bewegung ein und wird schließlich vollständig um 180° herum gedreht, so daß sein vorderes Ende nachher nach rückwärts gerichtet ist (s. Fig. 18). Entsprang die Geißel vorher vom hinteren Ende, so nimmt sie jetzt entsprechend vom vorderen Pole ihren Ausgang. Zumeist findet nach dem Umkehren des Körpers eine kurze Ruhepause statt. Und danach geht die Bewegung in derselben Richtung wie vorher, aber mit vom vorderen Ende entspringender Geißel weiter, bis sich dann die Bewegung wieder verlangsamt, der Körper in stärkere Schwankungen gerät, und schließlich wieder um 180° gedreht wird. Dieses Spiel kann man so in steter Aufeinanderfolge viele Male an ein und demselben Individuum beobachten. Geht die Bewegung während der ganzen Dauer des Vorganges noch verhältnismäßig rascher vor sich, dann erhält man den Eindruck, als würde der Körper um den Ansatzpunkt der Geißel nach rückwärts bezw. vorwärts geschleudert werden.

k) Abhängigkeit der Schnelligkeit der Achsendrehung des Körpers von der Gestalt der Geißel.

Es wurde schon erwähnt, daß die Geißel bei rascher Bewegung flach gestreckt, bei langsamer Bewegung weiter ausgebaucht ist. Aber nicht infolge dieses Umstandes bewegt sich der Körper rascher vorwärts, sondern die Verhältnisse stehen vielmehr so, daß der Körper sich um so rascher bewegt, je schneller die Kontraktionen die Geißel entlang ziehen, dabei wird aber, wie früher angeführt wurde, die Geißel ganz flach gestreckt. Die letztere Erscheinung ist also ein Merkmal sekundärer Art.

Die Schnelligkeit der Drehung des Körpers dürfte im allgemeinen nicht in gleichem Maße zunehmen wie die Geschwindigkeit der Vorwärtsbewegung. Bei rascher Bewegung kann man dies wohl nicht gut beurteilen. Die Vorgänge bei langsamer Bewegung lehren aber, daß bei verhältnismäßig langer Geißel mit ein bis zwei vollen Windungen die Drehung des Körpers im allgemeinen rascher von statten geht, wenn die Geißel weit ausgebaucht ist, als wenn sie flach gestreckt ist:

So wurde schon erwähnt, daß vor dem Umkehren des Körpers, wenn die nach rückwärts gekehrte Geißel plötzlich entgegengesetzt zu rotieren beginnt und sich immer mehr ausbaucht, der Körper kaum von der Stelle vorwärtskommt, dagegen aber raschere Rotationen vollführt. In älteren Präparaten, in denen die Spirillen schon ziemlich zur Ruhe gekommen sind, bemerkt man häufig Formen mit weit ausgebauchter Geißel, die sich ebenfalls kaum vom Orte bewegen, aber rasche Rotation und starke Trichterbewegung ausführen. Bekommt man ein derartiges Spirillum von der Schmalseite aus zu sehen, so daß der Geißelpol nach oben gerichtet ist, dann sieht man deutlich, daß die Geißel sich verhältnismäßig langsam rechts herum, der Körper aber rascher links herum dreht, wobei der Ansatzpunkt der Geißel infolge der Trichterbewegung einen Kreis in einer horizontalen Ebene beschreibt. Diese Beobachtungen stehen in einem gewissen Gegensatz zu der von Bütschli (18, p. 857) aufgestellten Annahme, daß die Schnelligkeit der Drehung des Körpers im geraden Verhältnis stehen müsse zur Höhe des Schraubenganges der Geißel. Dieser Widerspruch klärt sich dadurch auf, daß Bütschli eben einfach annimmt, die bei der Bewegung der Geißel senkrecht zur Körperachse gerichtete Kraftkomponente bewirke an und für sich die Drehung des Körpers, ohne daß er die Notwendigkeit des Vorhandenseins von Kräftepaaren zur Bewerkstelligung der Achsendrehung des Körpers berücksichtigt.

Zieht man aber die Drehpaare, die schon im Abschnitte f dieses Teiles eingehend behandelt wurden, mit in Berechnung, so ergibt es sich, daß die geschilderten Erscheinungen auch mit der Theorie übereinstimmen. Denn bei weit ausgebauchter Geißel stehen die Achsen der Drehpaare unter einem bedeutend geringeren Neigungswinkel zur Körperachse als bei steiler gewundener Geißel; sie werden daher im ersteren Falle eine stärkere Drehbewegung des Körpers um seine Längsachse verursachen als im letzteren. Außerdem wird bei weit ausgebauchter

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Geißel die Drehung noch dadurch eine Beschleunigung erfahren, daß die Arme und demzufolge auch die Momente der Drehpaare vergrößert werden.

Aus den beiden soeben dargestellten Vorgängen ergibt sich also tatsächlich eine Bestätigung für die Annahme über die für die Stärke der Trichterbewegung maßgebenden Umstände. Es wurde dort erwähnt, daß die Trichterbewegung um so schwächer sei, je rascher die sie bewirkenden Kräfte ihre Richtung ändern. Hier im umgekehrten Falle, wo infolge der langsamen Rotation der Geißel diese Richtungsänderung nur langsam von statten geht, entsteht trotz der raschen Achsendrehung des Körpers eine starke Trichterbewegung.

Diesbezüglich sei noch auf die folgende Erscheinung verwiesen: Bringt man die Spirillen in zähflüssige Medien, z. B. in Nährgelatine von $2^1/_2$—5 Proz. Gelatinegehalt, dann findet eine gesteigerte Geißeltätigkeit statt. Die Geißeln rotieren außerordentlich rasch und erscheinen ganz flach gestreckt. Infolge des großen Widerstandes, den der Körper im Medium erfährt, erfolgt aber die Achsendrehung und die Vorwärtsbewegung nur ganz langsam. Der Körper weicht seitlich beinahe gar nicht von der Bahn der Vorwärtsbewegung ab. Findet das letztere aber dennoch statt, dann erfolgt es aber bei weitem nicht, wie dies sonst der Fall zu sein pflegt, mit derselben Geschwindigkeit wie die Geißelrotation, derart, daß also jeder Geißelrotation auch ein voller Umlauf um den Trichter, den der Körper umfährt, entsprechen würde, sondern nur bedeutend langsamer, ja mitunter kommt sogar ein bloßes Hin- und Herpendeln des Körpers vor. Bei dieser Art der Bewegung ist oft noch eine Teilung des Geißelzopfes in zwei oder mehrere Teilstränge zu beobachten. Nur einer dieser Teilstränge bleibt flach gestreckt und in lebhafter Betätigung, die anderen erscheinen wie entspannt, weit ausgebaucht, gewunden und dementsprechend verkürzt und machen bloß die verhältnismäßig langsame Achsendrehung des Körpers mit. Sowie diese Spaltung des Geißelzopfes eintritt, tritt sofort eine Verlangsamung der Körperbewegung ein. Dieses Aussetzen einzelner Geißelstränge ist wohl auch auf Ermüdung des kontraktilen Plasmas zurückzuführen und dem zeitweisen Einstellen der Bewegung an die Seite zu stellen.

Es sei noch auf einige Beobachtungen verwiesen, die vielleicht einiges Interesse besitzen dürften:

In zähflüssiger Nährgelatinelösung kommt es häufig vor, daß die Geißeln beidpolig begeißelter Spirillen mit ihren Enden zusammenkleben. Man kann dann ganz deutlich den Verlauf der von der einen Geißel zur andern sich fortpflanzenden Kontraktionen bezw. Ausbauchungen verfolgen. Die Geißeln rotieren dabei im gleichen Sinne um den Körper herum. Dieser verbleibt an seiner Stelle und vollführt nur rasche Rotationen. Man bemerkt dann nacheinander folgende Phasen der Geißelbewegung: Die Ausbauchung beginnt z. B. von der Basis der linken Geißel (in Fig. 19), setzt sich dann nach rechts zur andern Geißel fort, gleichzeitig wandern die Geißeln um den Körper nach unten herum. Die Ausbauchung geht dann wieder auf die andere Geißel über, während beide an der anderen Seite des Körpers zum Vorschein kommen und nach aufwärts schwingen (s. Fig. 19d). Ebenso kommt es aber auch vor, daß Spirillen mit derartig verflochtenen Geißeln, welch letztere am rückwärtigen Ende des Körpers eine Schlinge bilden, sich, wenn auch nur langsam, vorwärtsbewegen (s. Fig. 19e).

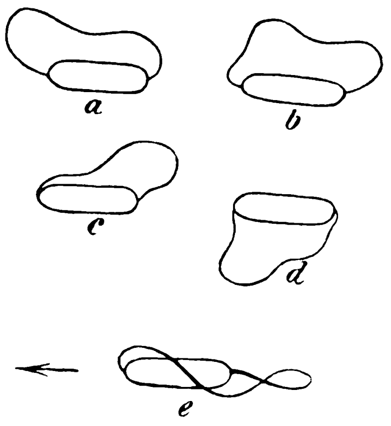


Fig. 19.

j) Vorgänge bei der Teilung der Spirillen.

In frischen Kulturen, und vor allem in flüssigen Nährmedien, findet man stets eine große Zahl von in Teilung befindlichen Individuen, und man hat dann oft Gelegenheit, die völlige Lostrennung der Teilindividuen verfolgen zu können. Kurz bevor das letztere eintritt, stellen die Teilspirillen schon wiederholte Versuche an, sich nach entgegengesetzten Seiten zu bewegen. Aber die Wirkungen der von den freien Körperenden nach entgegengesetzten Richtungen ausgestreckten Geißeln heben sich gegenseitig vollkommen auf, so daß nur ein Hin- und Herzerren der Spirillen stattfindet. Oft wird dann eine Geißel eingeschlagen, und die Bewegung geht unter bloßer Betätigung der anderen Geißel wieder glatt vonstatten, bis dann wieder die andere Geißel hervorgeschnellt wird und das Gegeneinanderarbeiten von neuem einsetzt. Schon vorher findet des öfteren ein gegenseitiges Verdrehen der Teilspirillen um ihre Längsachse statt (Fig. 20 b) und in einem derartigen Zustande der Verdrehung um 180° erfolgt auch stets die völlige Lostrennung. Plötzlich klappen die beiden Teilindividuen zusammen, so daß sie ganz nahe aneinanderzuliegen kommen und dann erfolgt ihre völlige Lostrennung, sie eilen nach entgegegengesetzten Richtungen auseinander (Fig. 20 c, d). Noch ehe die völlige Lostrennung stattfindet, kommt es mitunter vor, daß die Spirillen, ohne eine Achsendrehung auszuführen, sich im Kreise herumdrehen, im Uhrzeigersinne oder entgegengesetzt demselben, etwa um eine durch die Teilungsstelle gehende vertikale Achse, während die Geißeln beiderseits senkrecht zum Körper, aber nach entgegengesetzten Richtungen gestellt sind (s. Fig. 20 e). Dieser Vorgang ist ganz verständlich; denn die Achsendrehung und die Vorwärtsbewegungen, die von den beiden Geißeln in entgegengesetzter Weise bewerkstelligt werden würden, heben sich gegenseitig auf und es bleibt nur je eine Kraft senkrecht zum Körper, die zusammen ein Drehpaar abgeben, durch welches die eben beschriebene Drehung entsteht[1]).

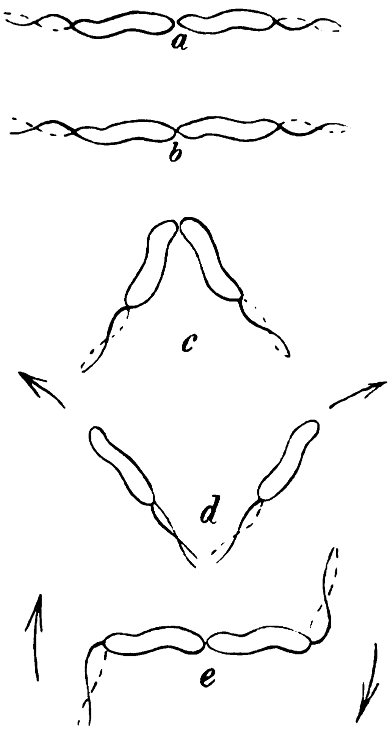


Fig. 20.

l) Betrachtungen über die Geißelbüschel der Spirillen.

In Anbetracht des Umstandes, daß die Spirillen, welche Geißelbüschel, also eine Mehrzahl von Geißeln an einem Pol besitzen, bei der Bewegung nur die Gesamtheit der zu einem dicken Strange vereinigten Geißeln, nicht aber die Einzelgeißeln selbst zur Anwendung bringen, könnte man vielleicht die Frage aufwerfen, wozu die Spirillen überhaupt Geißelbüschel und nicht eine einzige dicke Geißel ausbilden, sowie etwa die Vibrionen.

---

[1]) Bezüglich der Teilung der Spirillen sei noch bemerkt, daß dieselbe keineswegs in so schematischer Weise erfolgt, wie dies A. Fischer (11, p. 102) annimmt, nämlich daß die Teilung erst dann eintritt, wenn der Spirillenkörper einen vollen Schraubengang erreicht hat, und daß die Teilindividuen nach erfolgter Teilung je nur eine halbe Schraubenwindung aufweisen. Vielmehr läßt sich diesbezüglich gar keine Regel aufstellen. Die Teilindividuen haben häufig tatsächlich nur je einen halben Schraubengang, ebenso oft kommt es aber auch vor, daß sie je einen vollen Schraubengang oder noch mehr besitzen. Die diesbezüglichen Erscheinungen hängen sehr von der Konzentration der Nährmedien und von dem Alter der Kulturen ab.

Die Antwort auf diese Frage könnte vielleicht auf die folgende Weise gegeben werden: Die Spirillen sind nur imstande, Geißeln von jener Feinheit hervorzubringen, so wie sie eben bei ihnen nachzuweisen sind. Eine einzelne feine Geißel wäre aber nicht imstande, den verhältnismäßig umfangreichen schweren Körper in Bewegung zu versetzen. Es muß daher eine Mehrzahl von Geißeln ausgebildet werden, durch deren Zusammenwirken dieses erst ermöglicht wird.

Das Zusammenlegen der Einzelgeißeln eines Büschels erfolgt dann ganz allgemein in allen Medien bei lebhafter Bewegung, wie dies die beschriebenen Untersuchungen gelehrt haben. Es dürfte bedingt oder doch zumindestens befördert werden durch den Umstand, daß die Geißeln gleichzeitig und in derselben Weise von Kontraktionen durchzogen werden. In Elektrolytlösungen wird das Zusammenlegen der Geißeln, wie früher (III, 4) bewiesen wurde, noch wesentlich begünstigt. Wenn die Spirillen allmählich zur Ruhe kommen, so arbeiten die Geißeln nur mehr langsam und unregelmäßig, daher lösen sie sich voneinander los, die Geißelzöpfe spalten sich, so wie man dies beim Eintrocknen der Präparate oft beobachten kann.

VII. Die Geißeln der Spirillen.

1. Gestalt und Länge der Geißeln bei Spirillum volutans.

Die Geißeln der Spirillen entspringen von den Polen des Körpers in Büscheln zu 20—30 Fäden. An den lebenden Spirillen sind, wie schon des öfteren erwähnt wurde, die Geißeln im allgemeinen in Zopfform angeordnet. Die Dickenausdehnung dieser Zöpfe fällt gerade in das Grenzgebiet der Auflösungsfähigkeit gewöhnlicher Mikroskope. Nimmt man dementsprechend den Durchmesser des Zopfes mit 0,25 μ (= Grenze der Sichtbarkeit bei gewöhnlichen Mikroskopen für mittleres gelbes Licht) an, dann erhält man bei einem aus 25 Geißeln bestehenden Büschel für den Durchmesser der Einzelgeißel den Wert von 0,05 μ. Dieser Wert stimmt merkwürdigerweise mit demjenigen überein, den Migula (8, p. 116) auf Grund ganz anderer Ueberlegungen, nämlich aus der Dicke der Geißeln im Vergleiche zum Körper aus Färbepräparaten ableitet und den er für die Geißeln der Bakterien aller Arten in Anwendung bringt. Doch besteht gar kein Zweifel, daß die Geißeln verschiedener Arten erhebliche Unterschiede in ihrer Dicke aufweisen. Die Dicke der Vibriogeißel dürfte z. B. 0,1 μ, diejenige der Typhusbacillen aber sicher weniger als 0,05 μ betragen. Noch feiner als die Geißeln der letzten Art sind diejenigen vom Proteus vulgaris, von Paratyphus B, Bact. coli und diejenigen der Sarcinen.

Die Geißeln der Spirillen haben die Form von rechtsgewundenen Schraubenlinien (nach der Bezeichnung der Physiker), die bei größerer Längenausdehnung um einen Zylinder, bei geringerer Länge um einen Kegel gewunden sind. Aber auch der Zylinder geht wohl stets an dem Ende der Geißel, an welchem sie mit dem Körper in Verbindung steht, in einen Kegel oder Kegelstumpf über.

An den in Bewegung befindlichen Spirillen sind die Geißeln je nach der Schnelligkeit ihrer Bewegungen (der Schnelligkeit, mit der sich die Kontraktionen die Geißeln entlang fortpflanzen), bald weit ausgebaucht, bald steiler gewunden. Verlangsamt sich aber die Bewegung der Geißel oder wird sie ganz eingestellt, dann nimmt die Geißel stets die weiter ausgebauchte Form an, die man demgemäß an allen zur Ruhe gekommenen Spirillen zu sehen bekommt und als die normale Geißelform bezeichnen kann. Bei diesen normalen Formen beträgt die Ganghöhe einer Schraubenwindung $h = 7{,}5\ \mu$, der Durchmesser des Kreiszylinders, um den die Achse längerer Geißeln in Schraubenlinien gewunden ist $d = 3\ \mu$. Daraus ergibt sich die absolute Länge für eine Geißel von einer vollen Schraubenwindung $l = 12$ und der Steigerungswinkel der Schraube ungefähr $\alpha = 51^{0}$ (s. Fig. 21).

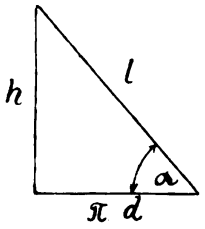


Fig. 21.

Die Einzelgeißeln eines Büschels haben wohl immer untereinander so ziemlich die gleiche absolute Länge, es konnten wenigstens diesbezüglich keine Ausnahmen beobachtet werden. Die absolute Länge der Geißelzöpfe ist aber großen Schwankungen unterworfen. In frischen Kulturen trifft man Geißeln in allen möglichen Stadien der Entwickelung an, mit einer absoluten Länge von 1—24 μ. Die große Mehrzahl der Spirillen besitzt aber Geißeln von mittlerer Länge, mit 1—$1^{1}/_{2}$ Schraubenwindungen normaler Form (einer absoluten Länge von 12—18 μ). Mit zunehmendem Alter der Kultur erreichen auch die Geißeln durchwegs eine erhebliche Länge. Und zwar tritt dies besonders in flüssigen Nährmedien augenfällig in Erscheinung, in denen sich die Spirillen bekanntermaßen viel länger im lebenden Zustande erhalten, als auf festen Nährböden. Ueber diese Verhältnisse wird im folgenden eingehend berichtet werden. Man trifft in alten flüssigen Kulturen besonders viele abgerissene Geißeln von ganz enormer Länge an, mit 4—6 Schraubengängen, die (bei 6 Gängen) einer absolute Länge bis zu 72 μ erreichen.

Die Geißeln entspringen bei Spirillum volutans durchwegs nur von den Polen des Körpers. Nur höchst selten konnten Ausnahmen hiervon beobachtet werden. So wurde einmal ein Spirillum gesehen, daß im ganzen 4 Geißelbüschel besaß, von denen je eines von den Enden des Körpers, die anderen zwei von Stellen der Längswand ausgingen, diese letzteren machten die Drehbewegung des Körpers mit. Bei längeren Formen, die aus zwei oder mehr Teilindividuen bestehen, kommt es besonders in flüssigen Kulturen oft vor, daß außer an den freien Polen auch von den Teilungswänden Geißeln entspringen.

2. Die Struktur der Geißeln.

Was die Struktur der Geißeln anbelangt, so wurde diesbezüglich schon auf Erscheinungen hingewiesen, die an den Geißeln in verdünnten Säuren oder in sauer reagierenden Salzlösungen auftreten. In Lösungen von gewisser Konzentration sind nämlich an den Geißeln eigentümliche Körnchen oder Kügelchen wahrzunehmen, die sich perlschnurartig aneinanderreihen. Eine ähnliche Struktur ist in sauren Lösungen auch bei den Vibrionengeißeln, ferner bei den mit Hämateïn gefärbten Bacillengeißeln zu sehen. Bei stärkeren Konzentrationen verkürzen sich, wie schon erwähnt wurde, die Geißeln, die Körnchen rücken aneinander, bilden einen einzigen Knopf, und die Geißel wird schließlich ganz aufgelöst.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß diese Erscheinungen in einen gewissen Zusammenhang zu bringen sind mit den von Künstler (30) bei Flagellaten und Bütschli (18) bei den Geißeln von Spirillen und

Schwefelbakterien beobachteten ähnlichen Körnchenstrukturen, ferner mit jenen Beobachtungen, die A. **Fischer** (10, p. 201) an den Geißeln von Flagellaten und mitunter auch bei Bakteriengeißeln (11, p 130. Taf. III. Fig. 19) gemacht hat. Während sich über das Zustandekommen dieser Struktur bei den Untersuchungen der beiden ersteren Forscher nichts Genaues sagen läßt, spielte bei **Fischer** die Dauer der Eintrocknung des Aufschwemmungstropfens eine gewisse Rolle. **Fischer** nahm größere und kleinere Tropfen der betreffenden fauligen Flüssigkeit, in der sich die Flagellaten entwickelt hatten. Je länger die Eintrocknung der Tropfen gedauert hatte, an desto zahlreicheren Geißeln war eine Körnchenstruktur wahrzunehmen. **Fischer** hält diese Struktur daher für ein Kunstprodukt, daß durch eine unvollständige Aufquellung der Geißeln entsteht. Es wäre aber auch denkbar, daß die Aufschwemmungsflüssigkeit bei **Fischer** sauer war und daß die Körnchenbildung ebenfalls auf die Einwirkung der Säure zurückzuführen ist. Ob es in dem letzteren Falle dann um Kunstprodukte handeln würde, oder ob dabei wirkliche Strukturelemente der Geißel herausmodelliert würden, das läßt sich nur schwer entscheiden. Auf jeden Fall wäre es denkbar, daß die Geißel aus differenzierten Elementen besteht, die von den Säuren in verschiedener Weise beeinflußt werden.

3. Der Basalkörper der Geißeln.

An abgerissenen Geißeln bezw. Geißelbüscheln kann man fast immer an einem Ende ein knopfartiges Gebilde wahrnehmen, und zwar stets an dem basalen Ende, d. h. an jenem Ende, an welchem die Geißel am Körper angesetzt war. Das letztere geht schon aus der Gestalt der Geißel hervor, die sich gegen das andere Ende zu verjüngt, oft aber kann man auch teilweise entfaltete Geißelbüschel sehen, bei denen 2—3 Geißeln an dem Knopf zusammenlaufen. Dieses Gebilde ist mit großer Regelmäßigkeit an fast allen abgerissenen Spirillengeißeln, aber auch bei den Geißeln von Bacillen zu sehen; es ist auch schon von **Fischer** (11, p. 128) beobachtet worden. Man wird wohl nicht fehl daran tun, wenn man annimmt, daß es sich hier um ein Plasmagebilde handelt, durch welches die Geißel mit dem Körper in Verbindung steht. Möglicherweise, daß es dem Blepharoplast bezw. dem Basalkörper, dem Bewegungszentrum der Flagellaten, an die Seite zu stellen ist, vielleicht aber handelt es sich bloß um mitabgerissene Membranstücke. Einmal aber konnte die Beobachtung gemacht werden, die entschieden der ersteren Anschauung mehr Wahrscheinlichkeit zuspricht. Es wurde lange Zeit ein Individuum aus dem Kondenswasser einer acht Tage alten Agarkultur betrachtet, welches drei außerordentlich große, beinahe das ganze Zellinnere einnehmende Volutanskugeln besaß. An dem einen Ende ließen die Kugeln noch etwas freien Raum. Dort war deutlich im Zellinnern nahe dem Körperende ein Körnchen zu sehen. Von demselben schienen nach zwei Seiten Geißeln auszugehen (s. Fig. 22). Diese Beobachtung würde wohl mehr zugunsten der von **Fischer** (11, p. 70) geäußerten Annahme sprechen, daß die Geißel, um sich bewegen zu können, mit dem Körperplasma in Verbindung stehen muß, und daß sie die Kontraktionsimpulse von dem letzteren empfängt. Allerdings konnte auch bei abgerissenen Spirillengeißeln in zwei Fällen noch eine Bewegung wahrgenommen werden, kurze Zeit lang hindurch nachdem sie sich vom Körper losgelöst hatten. Die Bewegung

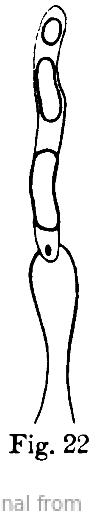


Fig. 22.

vollzog sich in derselben Weise, wie sie Fischer (10, p. 214) für abgerissene Flagellatengeißeln schildert. Es fanden noch einige Zuckungen der Geißeln statt, ein kurzes Hin- und Herflattern des in 2—3 Teile gespaltenen Geißelbüschels, bis dann bald die Bewegung ganz erlosch. In beiden Fällen war aber an der Geißelbasis außer dem erwähnten Knöpfchen noch ein größerer Plasmaklumpen zu sehen.

4. Die Entwicklung der Geißeln.

Was die Entwicklung der Geißeln von Spirillen anbelangt, so konnten nur die Beobachtungen von Fischer (11, p. 85) bestätigt werden, nämlich, daß man mitunter bei beidpolig begeißelten Individuen Geißeln von ganz geringer Länge sieht, die zweifelsohne junge Entwickelungsstadien der Geißelbüschel darstellen. Die Entwicklung der Geißeln geht aber doch nicht so rasch von statten, wie Fischer dies annehmen zu müssen glaubt. Selbst bei langer Verfolgung ein und desselben Individuums kann man niemals irgendwelche Längenveränderungen der Geißeln wahrnehmen. So wurde z. B. ein Spirillum mit einer ganz kurzen (1 μ langen) Geißel über eine halbe Stunde lang beobachtet, ohne daß das geringste Wachstum der Geißel wahrgenommen werden konnte. Fischer vermeint indessen, daß die Geißeln innerhalb einer Viertelstunde ihre volle Länge erreichen. Es ist demgegenüber vielmehr anzunehmen, daß die Geißeln ganz langsam heranwachsen, vielleicht im Anfange, nämlich solange die Kultur noch frisch ist, rascher als nachher, wenn die Wachstumsbedingungen in der älteren Kultur ungünstiger geworden sind. Und dieses Wachstum dürfte ständig andauern, solange die Spirillen noch lebend sind. Darauf läßt wenigstens die mit dem Alter der Kultur stetig zunehmende Länge der Geißeln schließen.

5. Zur Frage der beidpoligen Begeißelung der Spirillen.

Ich hatte seinerzeit in einer vorläufigen Mitteilung (44), die dieser Arbeit vorausging, der Meinung Ausdruck gegeben, daß die Spirillen und insbesondere Spirillum volutans im Gegensatze zu den Vibrionen normalerweise beidpolig begeißelt seien.

Für das Zustandekommen dieser Ansicht war zunächst der Umstand maßgebend gewesen, daß die Spirillen in frischen Kulturen sich in ihrer Mehrzahl beidpolig begeißelt erweisen, und daß man oft in flüssigen Kulturen Doppelindividuen beobachten kann, bei denen nicht nur an jedem der freien Pole, sondern auch von der deutlich ausgebildeten Teilungswand Geißeln entspringen. Dieser letztere Umstand sprach insbesondere für die Auffassung der beidpoligen Begeißelung. Denn er schien darauf hinzuweisen, daß mitunter noch vor dem vollständigen Ablauf der Teilung das normalerweise vorhandene zweite Geißelbüschel ausgebildet werde.

Bei den Vibrionen dagegen erscheint stets nur eine geringe Minderzahl der Individuen bipolar begeißelt. Auch konnten niemals an den Teilungswänden von Doppelindividuen Geißeln wahrgenommen werden.

Ausschlaggebend war aber für die Bildung der oben erwähnten Ansicht vor allem die Art und Weise, in der die Geißeln bei beidpolig begeißelten Spirillen zur Betätigung gelangen. Bei der Bewegung solcher Spirillen kommt nämlich stets nur das am hinteren Körperende befindliche Geißelbüschel zur Wirksamkeit. Das am vorderen Ende entspringende Geißelbüschel erscheint dagegen um den Körper geschlungen und verharrt in Ruhe. Ist die Bewegung eine Zeitlang auf diese Weise von statten gegangen, dann wird plötzlich das vordere Geißelbüschel

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

hervorgeschnellt und setzt den Körper nach der entgegengesetzten Richtung in Bewegung. Zu gleicher Zeit stellt das andere Geißelbüschel seine Tätigkeit ein und wird nun seinerseits um den Körper aufgewickelt. Ein derartiges gegenseitiges Ablösen der Geißelbüschel und der damit verbundene Umschlag des Bewegungssinnes findet manchmal zu wiederholten Malen rasch nacheinander statt. Dieser Vorgang schien gewissermaßen darauf hinzudeuten, daß zur Bewegung in einem Sinne nur die eine Geißel, zu derjenigen im entgegengesetzten Sinne die andere Geißel bestimmt sei.

Bei den Vibrionen zeigt sich auch hier wieder ein Unterschied. Die Geißel ist bald nach rückwärts gerichtet, bald geht sie dem Körper voraus. Bei beidpolig begeißelten Individuen bleiben stets beide Geißeln ausgestreckt und in Betätigung.

Nun haben aber eingehende Untersuchungen über die Geißelbewegung polarbegeißelter Bakterien, die im Vorausgehenden beschrieben wurden, gelehrt, daß in der Art, in der die Geißeln bei den Spirillen zur Betätigung kommen, sich kein prinzipieller Unterschied von derjenigen ergibt, wie sie bei den Vibrionen zu beobachten ist. Es hat sich vielmehr als sehr wahrscheinlich erwiesen, daß die Spirillengeißeln infolge ihrer größeren Länge und ihrer weiteren Windungen geringere Steifheit besitzen als diejenigen der Vibrionen, und daraus würde es erklärlich werden, daß die ersteren dem Körper bei der Bewegung niemals vorausgehen, sondern um ihn aufgewickelt werden. Des weiteren ergaben die Beobachtungen an Spirillen, daß auch einpolig begeißelte Individuen sich bald in dem einen, bald in dem entgegengesetzten Sinne vorwärtsbewegen können. Die Geißel ist allerdings dabei stets nach rückwärts gerichtet, und sie verläuft, falls der Pol, von dem sie entspringt, vorangeht, längs des Körpers nach rückwärts, wobei sie ihn in derselben Weise vorwärtstreibt, als wenn sie am hinteren Pole entspringen würde. Diese Erscheinung, die ja auch schon früher beobachtet worden war, war damals als anormal, gewissermaßen als Notbehelf angesehen worden.

Da in dieser Weise somit alle Erscheinungen ihre Erklärung auch ohne die Annahme der beidpoligen Begeißelung finden, kann man wieder zur alten Anschauung zurückkehren, daß die Spirillen normalerweise einpolig begeißelt sind, so wie dies auch von Fischer für die polarbegeißelten Bakterien allgemein angenommen wird.

Als bemerkenswert ergibt sich nur bei den Spirillen, daß das zweite Geißelbüschel im Gegensatze zu den Vibrionen schon lange vorher ausgebildet wird, ehe noch irgendein anderes Anzeichen der bevorstehenden Teilung wahrzunehmen ist, und daß die Teilindividuen häufig noch lange nach Ausbildung der Teilungswand noch aneinander haften bleiben, so daß inzwischen schon das Geißelbüschel auftritt, welches der nächsten Teilung vorausgeht, wie ja überhaupt bei den Spirillen ein größeres Bestreben zur Kettenbildung vorherrscht, als bei den Vibrionen.

6. Einfluß von Konzentration, Alter der Kultur und der Temperatur auf die Entwicklung von Körper und Geißel bei den Spirillen.

Zum Studium dieser Einflüsse wurden die folgenden Versuche unternommen:

Es wurde eine Anzahl von Röhrchen mit etwa gleichen Mengen von Nährlösungen beschickt, diese dann mit annähernd gleichen Mengen Spirillenmaterials (Spirillum volutans) von derselben Kultur geimpft und bei 28° im Brutschranke gehalten.

Die Nährlösungen waren in der gewöhnlichen Zusammensetzung hergestellt worden, hatten aber verschiedenen Wassergehalt. Und zwar kamen zur Verwendung:

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

a) Bouillon mit $^1/_3$ des normalen Wassergehaltes (in 3-fach. Konz.) = B $^1/_3$
b) „ „ $^1/_2$ „ „ „ „ 2 „ „ = B $^1/_2$
c) „ „ „ „ „ 1 „ „ = Bnml.
d) „ „ 2-fach „ „ „ „ $^1/_2$ „ „ = B2
e) „ „ 3 „ „ „ „ „ $^1/_3$ „ „ = B3
f) Nährgelatine mit 5-proz. Gelatinegehalt (bei 28° flüssig) „ = G5
g) „ „ 1 „ „ „ 17° „ = G1
h) Agarbouillon mit 0,02-proz. Agargehalt „ 17° „ = AB

Ferner wurde eine Reihe von Agarnährböden von verschiedenem Wassergehalte mit Spirillenmaterial von derselben Kultur wie oben beschickt und ebenfalls in den 28-grädigen Brutschrank gestellt:

i) 4 Monate alter Agar ohne Kondenswasserausscheidung = A alt
k) 2 „ „ „ mit geringer Kondenswasserausscheidung = A neu
l) frischer Agar von normalem Wassergehalte = A nml
m) „ „ „ $1^1/_3$ „ = A $1^1/_3$
n) „ „ „ $1^1/_2$ „ = A $1^1/_2$

Es wurden ferner Spirillen in normaler Bouillon

o) bei Zimmertemperatur (17°) = B 17
p) bei 22° = B 22

gezüchtet.

Die Kulturen wurden untersucht:

Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschranke.

1) B $^1/_3$. Die Spirillen sind nur sehr spärlich gewachsen, sie sind nur wenig beweglich, und stets sehr kurz, 3—6 μ lang, kommaartig und voller oft übermäßig großer Volutanskugeln. Die Geißeln sind in einen vollen Schraubengang gewunden, dessen Höhe = 6 μ.

2) B $^1/_2$: Es ist dasselbe Bild wie bei B $^1/_3$, die Bakterien ebenfalls nur schlecht gewachsen, 4,5—7,5 μ lang, wenig beweglich, voller großer Volutanskugeln. Die Geißeln wie oben.

3) Bnml. Die Spirillen sehr gut gewachsen, die Flüssigkeit getrübt, an der Oberfläche eine weiße milchige Schicht, die sich beim Schütteln des Röhrchens in der Flüssigkeit verteilt. Die Spirillen sind in lebhafter Bewegung. Sie sind in der Mehrzahl steil gewunden und mäßig lang, etwa 4,5—6 μ mit $^3/_4$—1 Schraubengang. Daneben gibt es auch stark schraubig gekrümmte Formen, etwa ein Drittel von allen, die mitunter bei 10,5 μ Länge $2^1/_4$ Umgänge aufweisen, wobei der Schraubendurchmesser D = 3 μ beträgt[1]). Vereinzelt kommen sehr lange Formen vor mit einer Länge von 15 μ bei $2^1/_2$ vollen Umgängen. Die Dicke des Körpers beträgt 1,5 μ. Im Körperinnern zeigen sich Körner und Kugeln, die letzteren aber nicht sehr zahlreich. Die Geißeln sind von normaler Form und Länge, meist 1 U (Schraubenumgang), dessen Höhe L = 9 μ ist, wobei der Durchmesser des Zylinders, um welchen die Geißelschraube gewunden D = 3 μ beträgt. Die Anzahl U variiert zwischen $^3/_4$—$1^1/_2$. Vereinzelt abgerissene Geißelbüschel.

4) und 5) B2 und B3: In beiden sind die Spirillen stark gewachsen, jedoch ohne Oberflächenbelag, sie sind in lebhafter Bewegung. Der Körper ist durchwegs lang und steil gewunden, und zwar von L = 4,5 μ angefangen, meist jedoch mit L = 9—12 μ. Es sind zahlreiche Doppelformen vorhanden mit einer Länge von oft 21 μ. Das Innere weist stets Körner auf, aber niemals Volutanskugeln. Die Geißeln sind durchweg kurz, L = 3—4,5 μ.

6) G5: Die Spirillen weniger stark gewachsen als in Bnml., doch ohne Oberflächenbelag. Ueberwiegend lange Formen von L = 6—12 μ, deren Windungen langsam ansteigen und weit ausgebogen sind, so daß auf L = 12 μ 3 U kommen. Es sind stets Volutans-Kugeln vorhanden. Die Geißeln in verschiedener Länge, und zwar durchschnittlich länger als Bnml. Die kurzen Spirillen haben absolut lange, die längeren kurze Geißeln.

7) G1: Ebenfalls nur mäßig gewachsen, ohne Oberflächenbelag. Die Länge der Spirillen 6—12 μ, doch sind die Schrauben in der Mehrzahl steiler gewunden, wie bei G5, in ähnlicher Weise wie in Bnml. Im Innern der Zellen sind stets Körner, aber meist nur kleinere und in geringer Zahl zu sehen. Volutans-Kugeln kommen nur

---

1) Wenn hier und im folgenden von der Länge der Spirillen oder der Geißeln gesprochen wird, so ist damit nicht die absolute Länge der erzeugenden des Körpers oder Geißel gemeint, sondern die kürzeste Entfernung der beiden Endpunkte derselben. Diese Länge soll künftig kurz mit L bezeichnet werden, ferner soll U einen vollen Schraubenumgang bezeichnen und D den Schraubendurchmesser = Durchmesser des Kreiszylinders, um den die Achse des Körpers bezw. der Geißel gewunden ist.

höchst vereinzelt vor. Die Geißeln von normaler Länge. Sie treten vereinzelt auch an den Teilungswänden von Doppelindividuen auf. Man findet oft abgerissene Geißeln von erheblicher Länge mit $2^1/_2$—3 U, L = 15—18 μ.

8) AB: Das Wachstum ist nicht so kräftig wie in reiner Bnml, aber stärker als in G. Es herrschen sonst dieselben Verhältnisse wie in Bnml. Viele abgerissene Geißeln von geringer Länge (1 U).

9) B17: Nichts gewachsen.

10) B22: Die Spirillen nur schwach gewachsen. Sie sind überwiegend lang und steil gewunden mit 2, $2^1/_2$ und 3 U auf 13,5 μ L. Im Innern sind stets Volutans-Kugeln. Sie sind häufig etwas plasmolysiert. Die Geißeln sind normal L = 6 μ.

Feste Nährböden.

Von der Oberfläche wurden die Spirillen in sterile G1 aufgeschwemmt. Bei 11, 12 und 13 zeigen sich niemals abgerissene Geißeln.

11) A alt: Die Spirillen sind durchwegs äußerst kurz, meist 4,5—6 μ, die längsten 7,5 μ. Sie erscheinen meist nur wenig gekrümmt, kommaartig und erreichen keine volle Schraubenwindung. Es kommen außerordentlich viele Doppelformen vor. Ein großer Teil enthält nur wenig Körner, doch sind häufig ganz kurze Formen zu sehen, meist Doppelindividuen, die dick aufgeschwollen und ganz mit Volutans-Kugeln vollgepfropft sind. Die Enden laufen spitz zu, während der mittlere Teil stark ausgebaucht ist (Involutionsformen). Häufig besitzen die ganz kurzen Spirillen selbst dann an beiden Enden Geißeln von ungleicher Länge, wenn von einer Teilungswand oder Einschnürung noch nicht die geringste Andeutung vorhanden ist. Die Geißeln sind meist ebenso lang oder nicht viel länger als die Spirillen, sie zeigen je eine volle Schraubenumdrehung von entsprechend geringeren Ausmaßen als im Normalfalle.

12) A neu: Ungefähr dasselbe Bild wie bei A alt. Die längsten Spirillen sind 9 μ lang, sie sind ganz schmal und steil gewunden. Es kommen ebenfalls Involutionsformen vor. Sonst treten nur verhältnismäßig wenig Körnchen und selten Volutanskugeln im Innern der Spirillen auf.

13) Anml.: Die Spirillen sind durchwegs länger und vor allem auch schlanker und schmäler als auf A alt und A neu. Im Innern kleine, körnige Volutans-Kugeln, L = 6—9 μ, die längsten Individuen 12 μ. Die Geißeln normal.

14) und 15) A$1^1/_3$, A$1^1/_2$: Die Länge der Spirillen nimmt mit steigendem Wassergehalte des Nährbodens zu. Der Körper selbst erscheint schlank und dünn, bei A$1^1/_2$ bis zu 15 μ lang. Die Schrauben steil gewunden und wenig ausgebogen. Das Innere weist stets Volutans-Kugeln auf, die mit zunehmendem Flüssigkeitsgehalte des Nährbodens größer werden. Die Geißeln normal. Es erscheinen vereinzelt abgerissene Geißeln.

16) Kondenswasser von 12—15: Es erscheinen auch hier neben kurzen 6 μ langen Formen viele längere und zwar stets länger werdend von 12 gegen 15 μ, oft bis zu 21 μ langen Individuen. Die letzteren sind aber stets sehr schlank und steil gewunden, im Innern sind kleine, körnerartige Volutans-Kugeln vorhanden, deren Größe von Anml. nach A$1^1/_2$, also in umgekehrter Weise wie auf den Oberflächen abnimmt. Die Geißeln sind meist länger als auf den entsprechenden Oberflächen. Es erscheinen oft abgerissene Geißeln, die mit 3 U eine L von 24 μ erreichen, also eine absolute Länge von 39 μ. Doch nimmt die Geißellänge nicht im selben Sinne zu wie diejenige der Spirillen, sondern es weisen im Gegenteil gerade die kurzen Formen sehr lange Geißeln und die langen Individuen kurze Geißeln auf.

Nach 48 Stunden.

17) B17: Die Spirillen sind gut aufgegangen. Es zeigen sich ungefähr dieselben Verhältnisse wie in Bnml. nach 24 Stunden.

18) G1: Die Spirillen sind dichter gewachsen; es hat sich ein Oberflächenhäutchen gebildet.

4 Tage alte Kulturen.

19) G5: Es hat sich ein dickes Oberflächenhäutchen gebildet. Die Spirillen sind teilweise flacher gebogen als in der 24 Stunden alten Kultur, ihre L = 9—15 μ. Sie sind voller großer Volutans-Kugeln, die gegenüber der Membran hellleuchtend erscheinen und oft über dieselbe hinaustreten.

20) G1: Aus der Flüssigkeit: Es sind überwiegend lange Formen (9—12 μ) vorhanden, das Innere aber meist ohne Körner, oft ganz leer. Die Geißeln in allen Größen bis zu 2 U.

Vom Oberflächenhäutchen: Es überwiegen auch hier die langen Formen. Etwa die Hälfte der Individuen ist weiter ausgebaucht. Im Innern stets viele Körner und oft Kugeln. Die Geißeln normal, abgerissene Geißeln von großer Länge.

8 Tage alte Kulturen.

21) B $^{1}/_{2}$, B $^{1}/_{3}$: Enthalten nur tote Formen, sie sind kurz und besitzen große Volutans-Kugeln.

22) In B 2 und B 3 haben sich an der Oberfläche geringe weißliche Verdichtungen gebildet, die sich aber bei der geringsten Erschütterung der Röhrchen sogleich senken und in der Flüssigkeit verteilen. Es sind in beiden Nährlösungen überwiegend lange (10,5—13,5 μ, manchmal 18,5 μ, vereinzelt selbst 31,5 μ) Formen zu finden (die kurzen sind 3—6 μ lang). Sie sind schlank und steil gewunden und besitzen im Innern stets Körner, aber in nicht allzu reichlichem Maße. Die Geißeln sind meist von normaler Länge, es sind häufig abgerissene Geißeln anzutreffen, die aber nicht übermäßig lang sind, sondern bei 10,5—13,5 μ Länge mit 2 U das Doppelte der normalen Länge erreichen. Es erscheinen keine Involutionsformen.

23) Bnml.: Die Flüssigkeit ist ganz klar geworden, am Boden ist ein weißlicher Satz, Oberflächenhäutchen vorhanden. Aus der Flüssigkeit: Es sind verhältnismäßig wenige Spirillen zu finden. Dieselben sind fast durchweg sehr kurz, L = $4^{1}/_{2}$—6 μ, die längsten 10,5 μ. Es sind da zum großen Teil Involutionsformen 1) vorhanden, die dick aufgeschwollen, mitunter fast kugelrund gestaltet sind. Die Enden laufen oft spitz zu, so daß die Zellen birnen- oder spindelförmige Gestalt annehmen. Das Innere der Involutionsformen strotzt von Volutans-Kugeln und Körnern. Daneben gibt es aber auch Individuen, deren Inneres fast ganz inhaltsleer erscheint und die auch größere Länge aufweisen. Die Geißeln sind fast stets außerordentlich lang, sie erreichen oft L = 36 μ mit 4 U. Es sind viele abgerissene Geißeln vorhanden, die stets eine enorme Länge aufweisen.

Im Oberflächenhäutchen finden sich dagegen fast nur lange (L = 12 μ) normale Formen, in der Ueberzahl steil gewunden, seltener weit ausgebaucht. Mitunter sieht man stark verkrümmte, plattgedrückte Individuen. Das Innere ist stets voller Volutans-Kugeln. Die Spirillen sind immer in Haufen beisammen und haften eng aneinander, so daß ihre Membranen teilweise schon untereinander zu verquellen beginnen und sich eine Kahmhaut von waben- oder bläschenförmiger Struktur bildet, die aus Verquellungs- bezw. Auflösungsprodukten besteht. Die Geißeln sind da durchweg verhältnismäßig kurz (6—9 μ lang).

24) G 5: Die Flüssigkeit ist ganz getrübt. Oberflächenhäutchen vorhanden. In der Flüssigkeit meist steil gewundene Formen von 3—10,5 μ. Im Innern der Spirillen Körner und kleine Volutans-Kugeln in nicht allzu großer Zahl. Die Geißeln etwas länger als normal. Von der Kahmhaut: Es sind in der Mehrzahl lange Individuen vorhanden, die stets voller dicker Volutans-Kugeln sind.

25) G 1: Starker Oberflächenbelag, der sich nicht zu Boden setzt. In der etwas getrübten Flüssigkeit sind überwiegend kurze Formen von 3—5,5 μ L (vereinzelt 13 μ), die zumeist inhaltsleer erscheinen. Daneben gibt es längere Individuen voller Volutans-Kugeln (wahrscheinlich vom Häutchen). Dann treten mitunter Involutionsformen, meist Doppelindividuen, auf, von denen jedes 3 μ lang ist, sie sind dick aufgeschwollen, voller heller Kugeln. Die Geißeln sind durchschnittlich etwas länger als normal, häufig lange, abgerissene Geißeln.

Vom Oberflächenhäutchen: Es sind kurze wie lange Formen vorhanden, alle voller leuchtender Volutans-Kugeln, die sich oft kettenförmig aneinanderreihen, mitunter langgestreckt erscheinen und zumeist das ganze Innere einnehmen. Es treten oft Involutionsformen, häufig Doppelformen, auf, darunter viele längere spindelförmige, mit übermäßig großen Kugeln.

26) AB: Die Flüssigkeit ist klar, an der Oberfläche eine geringe Verdichtung mit einzelnen weißlichen Häufchen. Es sind auch hier überwiegend kurze Formen (L = 4,5—5,5, oft bis zu 8 μ). Es sind schlanke und schmale Individuen vorhanden, mit nur wenigen Körnchen, und dann dick aufgeschwollene spindelförmige Involutionsformen vorhanden. Die Geißeln meist länger als normal, viele abgerissene äußerst lange Geißeln.

27) B 22: An der Oberfläche hat sich ebenfalls eine schwache Bakterienverdichtung gebildet, die sich beim Erschüttern des Gefäßes senkt. Es sind kurze, schmale Formen mit L = 5,5 μ, deren Inneres leer ist oder wenige Körnchen aufweist, dann

---

1) An den Involutionsformen sind sowohl in flüssigen, als auch in festen Kulturen stets noch Geißeln nachzuweisen und in den flüssigen Kulturen sind derartige Spirillen immer in der lebhaftesten Bewegung. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu dem von Fischer (11, p. 113) erhaltenen Befunde, wonach an Involutionsformen niemals Geißeln festzustellen wären. Es klärt sich dadurch auch der von Fischer hieraus konstruierte Widerspruch auf, nämlich, daß im Gegensatze zu diesen Beobachtungen bei den Involutionsformen sonst die Geißeln in den Kulturen stets an den Bakterien erhalten blieben.

längere Individuen, L = 13—16 μ, mitunter weit ausgebaucht geschraubt und dicke voller Volutanskugeln, sie stammen ohne Zweifel von der Oberflächenverdichtung. Außerdem sind häufig ganz kurze, stark aufgeschwollene, fast kugelrunde Involutionsformen anzutreffen von 3 μ Länge mit verhältnismäßig langen Geißeln (L = 8 μ). Es sind viele abgerissene, sehr lange Geißeln zu sehen.

28) B 17: Ebenfalls geringe Oberflächenverdichtung. Die Spirillen im allgemeinen normal, keine Involutionsformen.

Feste Nährböden, von der Oberfläche.

29. A alt: Fast alle Spirillen sind tot, sie sind stets kurz und zumeist normal gestaltet; L = 4,5, höchstens 9 μ. Das Innere ist ganz inhaltsleer. Doch kommen oft ausgebauchte, spitzzulaufende Involutionsformen vor, voller hellleuchtender Kugeln und Körner. Die Geißeln sind durchwegs erhalten und mit dem Körper in fester Verbindung, nur vereinzelt kommen abgerissene Geißeln vor. Sie sind stets länger wie die Körper der Spirillen. Es kommen nur sehr selten lange Geißeln vor, die mit 3 U, L = 21 μ erreichen.

Aehnliche Beobachtungen machten auch bei:

30) A neu:

31) Auf Anml., A$1^1/_3$ und A$1^1/_2$ treten auch nur selten lebende Individuen auf. Ihre Länge nimmt mit dem zunehmenden Wassergehalte des Nährbodens zu; die Dicke des Körpers dagegen ab. Schon in A nml. sind bis zu 15 μ lange Formen zu finden. Sie erscheinen häufig plasmolysiert und stark plattgedrückt; oft auch besitzen sie noch Volutanskugeln, die mitunter eine beträchtliche Größe erreichen. Die Geißeln sind im allgemeinen von normaler Länge, mit einer vollen Schraubenwindung (L = 9 μ), oder $1^1/_2$ derselben. Die Büschel sind häufig in 3—4 Teile entfaltet. Sie haften zumeist noch fest am Körper, doch nimmt die Zahl der abgerissenen Geißeln von A nml. gegen A $1^1/_2$ stetig zu.

Kondenswasser der Agarkulturen.

32) A nml.: Etwa nur ein Fünftel der Spirillen lebend. Die lebenden sind stets kurz, von 4,5 μ angefangen bis höchstens 9 μ; sie sind schlank und schmal, mitunter mit wenigen Körnern im Innern. Die toten Spirillen sind länger, teilweise in normaler Form, teilweise aber ganz plattgedrückt und zusammengeschrumpft. Die Geißeln der lebenden Spirillen sind stets länger als diese selbst. Es sind viele abgerissene Geißeln zu sehen von oft ganz enormer Länge, die längsten besitzen bei 73,5 μ 9 U. Diese langen Geißeln sind wohl stets durch Zusammenhaften mehrerer kürzerer entstanden, denn sie erreichen oft eine bedeutende Dicke und sind in verschiedenen Teilen verschieden dick, oder sie spalten sich der Länge nach in Teilstränge.

33) A $1^1/_3$: Ungefähr die Hälfte der Spirillen lebend. Bei den lebenden überwiegen die kürzeren, 6—9 μ langen Formen; sie sind durchwegs schmal und schlank gewunden, im Innern Körner. Die Geißeln sind stets sehr lang, mit $1^1/_2$ bis $2^1/_2$ U, und zwar weisen wieder die kurzen Individuen lange Geißeln auf, die die Länge des Körpers stets bedeutend überragen; die langen Formen haben dagegen kürzere Geißeln.

34) A $1^1/_2$: Fast alle Spirillen lebend; es überwiegen die langen Formen von L = 12 μ, sie sind stets schlank und steil gewunden. Das Innere fast durchwegs voller Volutanskugeln, die besonders bei den langen Individuen oft ganz beträchtlichen Umfang erreichen, derart, daß 3—4 Kugeln den größten Teil der Zelle einnehmen (s. Fig. 22). Die Geißeln sind stets sehr lang mit 3—4 U.

3 Wochen alte Kulturen.

35) B 2 und B 3: Es hat sich kein Oberflächenhäutchen gebildet, jedoch eine geringe Verdichtung an der Oberfläche, die aber bei der geringsten Erschütterung des Röhrchens zu Boden sinkt. Die überwiegende Mehrzahl der Spirillen ist lebend und in lebhafter Bewegung; es sind durchweg längere und sehr schmale, steil gewundene Formen vorhanden. Die kürzesten sind 6 μ, sehr viele mit 15 μ; sie erreichen aber mitunter ganz enorme Längen mit 30, 60 bis zu 90 μ. Es handelt sich in diesem Falle natürlich immer um Ketten mehrerer Individuen. Die Spirillen sind zumeist voller Volutanskugeln, in B 3 im allgemeinen weniger als in B 2. Mitunter erreichen die Kugeln eine beträchtliche Größe, treten beinahe über die Membran heraus, und reihen sich perlschnurartig aneinander (s. Fig. 23). Vereinzelt kommen auch Formen vor, die etwa doppelt so dick sind wie die normalen Spirillen, die gewöhnlich aber sonst normale Gestalt aufweisen und ebenfalls mit Volutanskugeln vollgepfropft sind. Die Geißeln sind durchwegs sehr lang, von 15—22,5 μ mit 2—3 U. Sie erscheinen merkwürdigerweise stets sehr fein, und sind oft nur schwer zu erkennen. Es finden sich zahlreiche abgerissene Geißeln, die aber keine übermäßige Länge erreichen, überwiegend mit 2—3 U, selten 4 U.

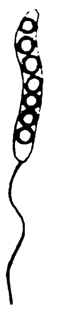


Fig. 23.

36) **Gl von der Flüssigkeit:** Es sind zumeist ganz kurze und dünne, 1,5—6 µ lange, stets mit Volutanskugeln angefüllte Individuen vorhanden; die Kugeln erreichen mitunter eine erhebliche Größe.

Vom Oberflächenhäutchen: Es sind überwiegend sehr lange Spirillen vorhanden mit 12—21 µ, stets mit vielen äußerst großen Volutanskugeln, die sich oft perlschnurartig aneinanderreihen und über die Membran hinauszutreten scheinen. Die Geißeln durchschnittlich länger als normal.

4 Wochen alte Kulturen.

37) **Bnml:** Der Oberflächenbelag war schon bei der 8 Tage alten Kultur durch starkes Umschütteln zerstört worden. Es hatte sich kein neuer gebildet. Die Flüssigkeit ist ganz klar, am Boden ein weißlicher Satz. Es sind nicht viele, und stets nur äußerst kurze, 1,5—3, selten 4,5 µ lange Individuen vorhanden, und zwar überwiegend Doppelformen. Die ganz kurzen Spirillen sind kugelrund, die längeren ellipsoid- oder spindelförmig, stets mit großen Volutanskugeln. Sie haben äußerst lange und sehr feine Geißeln, die nur schwer erkennbar sind, 15—21 µ lang. Sie bewegen sich im allgemeinen nur langsam vorwärts. Es sind außerordentlich viele abgerissene, äußerst lange Geißeln zu sehen, durchschnittlich mit 4 U und 30 µ lang. An vielen Geißeln hängen kurze, schmale, abgestorbene Spirillen.

38) **G 1:** In der Flüssigkeit, die ganz klar ist, fast gar keine Bakterien, nur einzelne tote, die stets ganz kurz sind. Im Häutchen sind auch stets nur tote und überwiegend kurze, 4,5—9,5 µ lange Individuen, meist nur mit wenigen Körnchen, und schmale. Die Geißeln stets sehr lang. Vereinzelt findet man dickere Spirillen mit 2—3 großen Volutanskugeln, deren Inneres häufig plasmolysiert ist.

39) **B 17:** Es ist noch eine geringe Verdichtung an der Oberfläche vorhanden. Die Spirillen alle lebend, zum größten Teil kurz und mit nicht übermäßig großen Volutanskugeln. Nur sehr selten Involutionsformen.

Aus den soeben beschriebenen Untersuchungen läßt sich das folgende Ergebnis ableiten:

1) In reiner Nährbouillon bei 28° findet eine intensivere Vermehrung der Spirillen statt, als in der mit Gelatine oder Agar versetzten Bouillon; intensiver ferner als in B $^1/_2$, B $^1/_3$, B 2 oder B 3, ferner als bei B 17 und B 22.

Bei festen Nährböden findet aber ein um so intensiveres Wachstum statt, je wasserreicher sie sind.

2) Die Spirillen erscheinen um so kürzer und dicker, je wasserärmer der Nährboden ist, und umgekehrt nimmt die Länge und die Schlankheit der Individuen mit steigendem Wassergehalte zu.

3) Es herrscht keinerlei Parallelismus zwischen Vermehrungsintensität und Länge der Spirillen. In Lösungen stärkerer Konzentration findet geringe Vermehrung und langsames Wachstum der Spirillen statt, es kommen aber nur ganz kurze Formen vor, in Lösungen mittlerer (normaler) Konzentrationen herrscht rasche Vermehrung, und es erscheinen kurze oder mittellange Zellen, in Lösungen geringer Konzentration zeigt sich wieder geringe Vermehrung und man sieht lange Formen.

4) Die Körnchen und Volutanskugeln treten um so seltener und um so später im Entwickelungsgang der Spirillen auf, je wasserreicher der Nährboden ist.

5) Ein Oberflächenbelag bildet sich nur bei intensivem Wachstum (B nml., G 1).

6) Die Spirillen erscheinen um so mehr ausgebaucht (die Schrauben um so langsamer ansteigend), je zähflüssiger das Medium ist.

7) Degenerationserscheinungen (Involutionsformen) treten um so früher auf, je intensiver die Entwickelung der Spirillen in dem betreffenden Nährboden stattgefunden hat.

8) An den überlebenden Individuen nehmen die Volutanskugeln mit dem Alter der Kulturen an Umfang zu.

9) Mit zunehmendem Alter der Kultur macht sich auch das Bestreben der Spirillen, daß die Teilindividuen nach vollzogener Teilung noch an-

einanderhaften bleiben, das Bestreben zur Kettenbildung in verstärktem Maße geltend.

10) Die Länge der Geißeln nimmt mit dem Alter der Spirillen zu. Demgemäß erscheinen die Geißeln durchwegs länger, je älter die Kultur ist. Mit zunehmendem Alter der Kultur wächst auch die Zahl der abgerissenen Geißeln.

Für die soeben angeführten Erscheinungen mögen die folgenden Erwägungen gelten:

Zu 1. Der Zusatz von Substanzen, welche die Viskosität des Mediums erhöhen, wie Gelatine und Agar, wirkt wie eine Verdünnung des Mediums. Die Entwickelung findet infolgedessen ebenso wie in den verdünnteren Nährmedien (B2, B3) nur mit geringerer Intensität statt, wie in B nml. Die Individuen erreichen längere Gestalt und die Volutanskugeln bilden sich erst bei einem späteren Zeitpunkt der Kultur aus.

Zu 2. Man könnte zu der Annahme kommen, daß die Zellen in Nährlösungen von geringer Konzentration wegen des geringen osmotischen Druckes derselben längere Gestalt erreichen. Doch müßte sich dieser Einfluß im selben Maße auch nach der Ausdehnung in der Dicke, ebenso wie nach der Länge bemerkbar machen. Dies ist aber, wie oben erwähnt wurde, nicht der Fall. Vielmehr erscheinen die Spirillen in Lösungen stärkerer Konzentration dicker als in solchen von geringerer Konzentration. Es muß also diesbezüglich wohl noch ein anderer Umstand mitwirken. (Möglicherweise spielen dabei gewisse Strukturelemente der Bakterienmembran, etwa Längsfibrillen, wie sie bei den Protozoen vorkommen, eine gewisse Rolle.)

Zu 3. 4. Nach den Untersuchungen von Migula (8, p. 80) gilt es als feststehend, daß das Innere des Bakterienkörpers in seinem frühesten Entwickelungsstadium zunächst aus einer homogenen flüssigen Masse besteht, in der mit zunehmendem Alter Körnchen und Hohlräume auftreten. Die letzteren sind mit Zellsaft angefüllt, ähnlich wie dies bei Pflanzenzellen der Fall ist. Die Volutanskugeln der Spirillen können also auch wohl als derartige Zellsaftvakuolen angesehen werden.

In Nährlösungen stärkerer Konzentration läuft der Entwickelungsgang der Bakterien bedeutend rascher ab, als in Medien von geringerer Konzentration. Daher erscheinen die Volutanskugeln im ersten Falle schon in ganz frischen (12 Stunden alten) Kulturen, während sie im letzteren Falle erst nach längerer Zeit bei einige Tage alten Kulturen auftreten.

Zu 5. Der Oberflächenbelag entsteht dadurch, daß die Spirillen bei intensivem Wachstum in der Flüssigkeit zu wenig Sauerstoff finden und sich daher gegen die Oberfläche drängen. Hier an der Oberfläche findet man dann vor allem die überlebenden älteren Formen, während die Spirillen, deren Entwickelungsgang beendigt ist, zu Boden sinken, so daß in der Flüssigkeit selbst nur wenig Individuen verbleiben, welche die Formen der ersten Entwickelungsstadien mit homogenem Inhalte zeigen. Im Oberflächenbelag, in dem eine ungeheuere Anhäufung von Bakterien stattfindet, verquellen die Membrane der aneinanderhaftenden Individuen im Laufe der Zeit, dieselben lösen sich allmählich auf und es bleibt nur mehr die Kahmhaut, die eine wabenförmige körnige Struktur besitzt. An den noch lebenden Individuen bildet sich dann ein starker Belag der Kahmhautsubstanzen, so daß dieselben (bei Dunkelfeldbeleuchtung) hellleuchtend erscheinen.

Zu 6. Die weitere Ausbauchung der Schraubengestalt der Spirillen in Medien von großer Viskosität ist wohl als Reaktion auf den größeren

Widerstand aufzufassen, den sie in solchen Medien bei der Bewegung erfahren.

Zu 7. Bezüglich des Entstehens der Involutionsformen gelten wohl die Betrachtungen, die A. Fischer in seinem Buche (13) anstellt, nämlich daß dieselben hervorgerufen werden durch den schädlichen Einfluß der Stoffwechselprodukte der Bakterien. Des weiteren geht aus den neuesten Untersuchungen dieses Forschers (14) hervor, daß ein gewisser Säuregehalt der Nährflüssigkeiten die Entstehung der Involutionsformen begünstigt oder vielleicht sogar überhaupt die Ursache derselben ist. Auf jeden Fall zeigen auch die vorliegenden Untersuchungen, daß die Involutionsformen um so früher auftreten, je intensiver die Vermehrung der Spirillen in der ersten Zeit stattgefunden hat, je mehr Stoffwechselprodukte sich in den Flüssigkeiten infolgedessen angehäuft haben, bezw. je mehr Säure gebildet wurde. Involutionsformen zeigen sich insbesondere auch sehr zahlreich in der Kahmhaut, dort, wo eben eine äußerst reichliche Anhäufung von Individuen stattfindet.

Zu 8. Auch bezüglich dieses Umstandes gilt es, daß besonders häufig Individuen mit großen Volutanskugeln in der Kahmhaut auftreten.

Zu 10. Was die Geißeln anbelangt, so zeigt sich ganz allgemein, daß dieselben in jungen Kulturen zunächst durchwegs kurz sind und mit dem Alter der Kultur, wenigstens solange die Bakterien sich noch in lebensfähigem Zustande befinden, ständig an Länge zunehmen. Auf der Oberfläche von Agarnährböden erscheinen die Geißeln in älteren Kulturen zwar stets länger als in ganz jungen, doch erreichen sie entsprechend dem Umstande, daß die Entwickelung der Bakterien hier bald beendet ist, und in 8 Tage alten Kulturen die meisten Individuen abgestorben sind, niemals jene enormen Längen, wie in flüssigen Nährmedien.

In flüssigen Medien dagegen nimmt die Länge der Geißeln ständig zu, solange die Bakterien noch lebend sind. Deshalb sieht man dort in älteren Kulturen durchwegs sehr lange Geißeln.

Die Geißeln bleiben auf festen Medien, auch in alten Kulturen zum größten Teil in fester Verbindung mit dem Bakterienkörper, sie werden also nicht abgeworfen, wie allgemein angenommen wird. In flüssigen Nährmedien dagegen erscheinen stets abgerissene Geißeln, deren Zahl mit dem Alter der Kultur zunimmt, und zwar sind es vor allem die enormen langen Geißeln, welche sich ablösen. Nun ist es klar, daß die Möglichkeit, daß die Geißel an irgendeinem Fremdkörper haften bleibt, sei dies nun an der Geißel oder dem Körper eines anderen Individuums, um so größer, je länger sie selbst ist. Auf diese Weise, nämlich durch Verhängen der Geißeln, dürfte es zumeist vorkommen, daß sie sich vom Körper loslösen. Darauf deutet auch der Umstand hin, daß man sehr oft Bündel mehrerer langer zusammenhängender Geißeln antrifft.

Der Umstand, daß lange Bakterien kurze Geißeln und kurze Bakterien zumeist lange Geißeln besitzen, läßt sich vielleicht auf folgende Weise erklären: Die langen Individuen könnte man als in Teilung befindliche Formen auffassen, bei denen die Querteilung noch nicht eingetreten ist. Es wäre aber dann noch nicht einzusehen, warum gerade sie kurze Geißeln haben sollten. Man könnte vielleicht eher noch annehmen, daß es sich in diesem Falle um verhältnismäßig junge Formen handelt, die aber infolge der günstigen Entwickelungsbedingungen über alle Maßen emporgeschossen sind. Diesem Umstande würde es entsprechen, daß die langen Formen, wie dies oben erwähnt wurde, vor

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

allem in ganz frischen Kulturen auftreten, in denen noch reichliche Nährstoffe und überhaupt günstige Wachstumsbedingungen vorhanden sind. Diese Formen haben zumeist eine kurze Lebensdauer. Sie gehen bald zugrunde und in älteren flüssigen Kulturen finden sie sich gar nicht mehr. Besonders deutlich tritt dies auch bei Proteus vulgaris in Erscheinung, von dessen langen Formen noch die Rede sein wird. Dieselben bewegen sich auch in ganz frischen Kulturen nur sehr langsam, jedenfalls aber langsamer als die kürzeren Stäbchen und sie sterben im Präparate viel früher als die letzteren ab. In 48 Stunden alten Kulturen finden sie sich schon gar nicht mehr.

Die Lebensdauer der kurzen Formen dagegen ist vor allem in flüssigen Kulturen eine viel längere. Sie sind bei den Bakterienarten, welche keine Sporen ausbilden, gewissermaßen die Dauerformen.

Solange die Bakterien sich noch im lebensfähigen Zustande befinden, findet auch ein Wachstum statt. Am Körper läßt sich dies wohl nicht feststellen; denn seine Länge wird durch die Teilungsvorgänge immer wieder verändert. An den Geißeln kommt dies aber ganz deutlich zum Ausdruck. Sie erscheinen umso länger, je älter die Kultur ist, ein um so größeres Alter dementsprechend auch ein Teil der Bakterien aufweist. An den Geißeln kann man gewissermaßen das Alter der Bakterien erkennen.

Ein Einrollen der Geißeln konnte in normalen Medien niemals beobachtet werden. Stets zeigen die Geißeln in jungen, wie in alten Kulturen ihre normale Schraubenform. Nur in einer 2 Monate alten Kultur von B 3, in der bereits alle Individuen abgestorben waren, konnten ganz vereinzelt an den Spirillen ösenartige Anhängsel beobachtet werden, die jedenfalls eingerollte Geißeln darstellten. Dagegen konnten sehr häufig solche Geißelösen an Typhusbacillen im Kondenswasser von Serumkulturen beobachtet werden.

VIII. Die Geißeln der Vibrionen.

Bezüglich der Geißelbewegung der Vibrionen wurde im vorhergehenden Abschnitte bereits das Wesentlichste gesagt. Es wurde auch darauf hingewien, daß die Vibrionen die gröbsten Geißeln unter den Bakterien besitzen. Dies steht im Einklang mit dem Umstande, daß bei ihnen die Geißeln an dem einzelnen Individuum in der Regel nur in der Einzahl ausgebildet werden. Es muß daher die Geißel schon an und für sich eine ziemliche Dicke besitzen, um in der Flüssigkeit den nötigen Widerstand zu finden und den Körper vorwärts bewegen zu können.

Zur Beobachtung der Geißeln der Vibrionen müssen allerdings mehr als bei den Geißeln anderer Bakterien die günstigsten Vorbedingungen erfüllt sein:

Es sind dies intensive Lichtquellen (20—30-amp. Gleichstrombogenlampe), sorgfältigst gereinigte Objektträger und Deckgläser, Berücksichtigung der Deckglasdicke und Vermeidung einer zu großen Materialanhäufung im Präparate. Am besten treten die Geißeln in Erscheinung, wenn die Vibrionen auf Agarnährböden gezüchtet wurden, die kurz vorher verflüssigt und wieder zum Erstarren gebracht wurden, so daß sich auf der ganzen Agaroberfläche noch eine Kondenswasserschicht befindet. Um die Vibrionen in lebhafter Bewegung zu erhalten, darf man wegen ihrer intensiven Vermehrung nur ganz frische (bis zu 12 Stunden alte) Kulturen verwenden.

Es läßt sich jedoch bei den Geißeln der Vibrionen wenigstens nach den oberflächlichen diesbezüglich vorläufig vorliegenden Untersuchungen kein so weit gehender Einfluß des Mediums auf die Sichtbarmachung der Geißeln beobachten, wie bei den übrigen Bakterienarten, sowie insbesondere bei den Spirillen. Man kann im allgemeinen sagen, daß die Geißeln in elektrolythaltigen sowohl als auch in kolloidhaltigen Medien, so z. B. auch in Bouillon, Nährgelatine, oder im Kondenswasser kaum, oder nur in kaum wahrnehmbarer Weise besser sichtbar werden, als dies z. B. im destillierten Wasser der Fall ist.

In Beizlösungen, z. B. in 0,8—0,08-proz. Aluminiumacetat- oder Aluminiumsulfatlösung, ferner in 1-proz. Cadmium-, oder in 0,05-proz. Goldchloridlösung tritt eine bedeutend ausgiebigere Darstellung der Geißeln ein. Dieselben erscheinen hier ebenso wie die Spirillengeißeln in körniger Struktur. Doch werden die Vibrionen in Lösungen, in denen die Geißeln noch gebeizt werden, ebenfalls abgetötet, während in Lösungen von geringerer Konzentration, in welchen die Bakterien weiterleben können, z. B. in 0,001-proz. Aluminiumacetatlösung, die Beizwirkung ausbleibt.

Die Geißel der Vibrionen besitzt im allgemeinen nur 1—2 volle Schraubenumgänge, oder höchstens deren 3, die Höhe eines Umganges beträgt 1,8 μ. Geißeln mit mehr als 3 Windungen, wie sie bei sämtlichen übrigen Bakterien vorkommen, konnten hier nicht beobachtet werden. Diese Erscheinung hängt ohne Zweifel damit zusammen, daß die Vibrionen sich infolge ihrer äußerst intensiven Vermehrungstätigkeit in den Kulturen nur verhältnismäßig kurze Zeit lebend erhalten. So erscheinen schon in 24 Stunden alten Kulturen die meisten Vibrionen leblos. Es wurde schon erwähnt, daß die Vibrionen meist nur eine Geißel an einem Pole besitzen. Nur selten trifft man an beiden Polen je eine Geißel an, noch seltener erscheinen 2 Geißeln an einem Pole. Diese Verhältnisse ändern sich in keiner Weise, wenn man die Geißeln mit 5-proz. Hämateïnlösung färbt. Es konnte in diesem Falle niemals eine Vermehrung bezw. ein Hinzutreten weiterer Geißeln beobachtet werden. Der Umstand, daß nur so selten Vibrionen mit je einer Geißel an beiden Polen vorkommen, ist sehr merkwürdig, wenn man die außerordentlich intensive Vermehrung in Betracht zieht, der zufolge man doch sehr häufig alle möglichen Teilungszustände wahrnehmen müßte, die vor allem auch durch häufiges Auftreten bipolarbegeißelter Individuen zum Ausdruck kommen müßte. Daß dies nicht der Fall ist, mag vielleicht darin seinen Grund haben, daß die Geißeln des Tochterindividuums erst kurz vor der Teilung und dann zunächst noch ganz kurz und kaum wahrnehmbar hervortritt. Auf jeden Fall tritt bei den Vibrionen viel weniger als bei den Spirillen das Bestreben der Kettenbildung zutage.

IX. Die Geißeln der Pseudomonasarten (Stäbchenbakterien mit polaren Geißeln).

Eingehender untersucht wurde Pseudomonas syncyanea (Bakt. der blauen Milch). Die Bewegungsverhältnisse dieser Bakterien wurden bereits bei der Besprechung der Bewegungserscheinungen polar begeißelter Bakterien behandelt. Da die Pseudomonaden polare Geißelbüschel besitzen, können bei ihnen im allgemeinen genau dieselben Vorgänge beobachtet werden, wie bei den Spirillen.

Die Geißeln sind hier noch etwas zarter als diejenigen von Spirillum volutans, sie werden zumeist unter denselben Bedingungen sichtbar, wie diese, wenn auch nicht immer so vollständig. Im destillierten Wasser sind die Geißeln nicht zu sehen, sie kommen aber in Elektrolytlösungen wenigstens an den lebenden Individuen zum Vorschein, ebenso in Bouillon und flüssiger Nährgelatine, am besten sind sie aber ohne Zweifel im Agarkondenswasser wahrzunehmen.

Die Geißeln sind ebenfalls in der Form rechtsgängiger Schraubenlinien gewunden. In Gestalt, Länge, Anzahl der Schraubengänge gleichen sie vielmehr den Geißeln der Bacillen, z. B. denjenigen der Typhusbacillen, als denjenigen der Spirillen, wie ja auch diese Bakterien in Gestalt und in den Ausmaßen des Körpers sich ganz den Bacillen anschließen. In 24 Stunden alten Agarkulturen besitzen die Geißeln der von der Oberfläche genommenen Bakterien zumeist zwei volle Schraubenumgänge, mitunter erreichen sie deren bis zu vier. Besonders im Kondenswasser einer solchen Kultur finden sich viele Bakterien mit langen Geißeln, außerdem kann man hier auch oft abgerissene Geißelstränge von abnormer Länge mit bis zu acht vollen Schraubengängen beobachten, wobei an derselben Geißel oft Stellen von verschiedener Dicke auftreten. Der letztere Umstand erklärt sich durch das Aneinanderhaften von Geißeln verschiedener Länge. Die Höhe eines einzelnen Schraubenganges beträgt an den in Ruhe befindlichen Geißeln $2^1/_4$ μ. Es ist bemerkenswert, daß die Geißeln der Pseudomonaden im Gegensatze zu denjenigen der Spirillen ihre normale Form fast stets beibehalten, so auch beim Entfalten der Büschel und beim Einschlagen der Geißeln um den Körper. Dies erklärt sich durch die größere Steifheit der Geißeln, die auch dadurch zum Ausdruck kommt, daß dieselben mitunter bei der Bewegung dem Körper vorangehen. Die Geißeln treten im allgemeinen in Büscheln an den Polen auf. In destilliertem Wasser durch Osmiumsäurezusatz zur Entfaltung gebracht und mit Hämateïn gefärbt, kann man an den Büscheln bis zu 8 Geißeln zählen. Wie bei den Spirillen, so kommen auch hier teilweise einpolig, teilweise beidpolig begeißelte Individuen vor, und dürfte bezüglich dieses Umstandes wohl auch hier das bei jener Art Gesagte gelten. Viel häufiger wie bei den Spirillen treten hier aber an den längeren Formen, die besonders im Kondenswasser häufig zu beobachten sind, Geißeln auch an den Quer- bezw. Teilungswänden auf, und mitunter sind bei den längeren Individuen selbst Geißeln an Stellen der Längswand wahrzunehmen, an denen noch keinerlei Einschnürung oder Querteilung angedeutet ist. Demgemäß könnte man zu der Auffassung gelangen, daß es sich bei dieser Bakterienart um eine Uebergangsform von polarbegeißelten zu peritrich begeißelten Bakterien handelt.

Die Bakterien dieser Art werden unter dem Einfluß des intensiven Lichtes rasch abgetötet, und wahrscheinlich infolge dieses Umstandes bekommt man hier mitunter Erscheinungen zu sehen, die man bei den Spirillen faßt nie beobachten kann. Es erscheint selbst bei der Bewegung an einzelnen Individuen das Geißelbüschel in zwei oder mehrere Teile gespalten, von denen sich jeder lebhaft bewegt. Körper und Geißel vollführen dabei starke Trichterbewegung.

X. Die Geißeln und die Bewegungserscheinungen bei den Bacillen.

1. Sichtbarmachung der Geißeln lebender Bacillen.

Bezüglich der Sichtbarmachung der Geißeln an lebenden Bacillen wurde schon eingangs im Abschnitte III das Wesentlichste vermerkt. Es sei hier noch einiges über die Umstände angeführt, durch welche diese Sichtbarmachung herbeigeführt wird.

Wie schon erwähnt, sind die Geißeln der Bacillen weder im destillierten Wasser noch in Elektrolytlösung zu sehen. Sie treten aber in gewissen kolloidalen Lösungen, z. B. in Lösungen von Gelatine, Agar-Agar, Gummi arabicum und Pepton in Erscheinung.

Zum Studium der obwaltenden Verhältnisse eignen sich hier vornehmlich die Typhusbacillen, da sie verhältnismäßig grobe Geißeln besitzen. Bringt man Typhusbacillen von der Oberfläche einer frischen Agarkultur direkt in eine 10-proz. Lösung von arabischem Gummi oder in eine 1-proz. Peptonlösung, so sind die Geißeln nur an einer Minderzahl, der Individuen, in 10-proz. Peptonlösung dagegen schon bedeutend häufiger wahrzunehmen und zwar vor allem an den in rascher Bewegung befindlichen Bacillen. Es erscheint im allgemeinen an den Stäbchen je eine lange nach rückwärts gerichtete Geißel. In 1—$2^1/_2$-proz. Gelatinelösung, sowie in 0,2-proz. Agarlösung sind aber keine Geißeln zu sehen. Setzt man den Kolloidlösungen Elektrolyte hinzu, vermischt man sie in den oben angeführten Konzentrationen zu gleichen Teilen, z. B. mit 0,25—0,5-proz. Natriumphosphatlösung, so kommen die Geißeln an den beweglichen Bacillen ganz allgemein zum Vorschein. Es ergibt sich da die merkwürdige Tatsache, daß die Bacillengeißeln am besten in einigen der üblichen Nährlösungen zu sehen sind, und zwar im Agarkondenswasser und in Nährgelatine von 1-proz. Gelatinegehalt. Diese Medien enthalten die zur Sichtbarmachung der Geißeln nötigen Kolloide und Elektrolyte schon in der zweckentsprechendsten Zusammensetzung.

Man kann wohl annehmen, daß bei der Darstellung der Bacillengeißeln ähnliche Umstände maßgebend sind, wie bei derjenigen der Geißeln von Spirillum volutans. Hier wie dort spielt nämlich das Zusammenhaften einer gewissen Zahl von Einzelgeißeln zu dickeren Strängen, den sogenannten Zöpfen, eine wesentliche Rolle.

Daß bei den Bacillengeißeln ebenfalls eine Zopfbildung eintritt, das geht zunächst schon aus der Erscheinung hervor, daß man des öfteren Bacillen zu sehen bekommt mit Geißeln, die in ihrer Längserstreckung eine verschiedene Dicke aufweisen, und zwar derart, daß die Geißel vom Körper aus bis etwa zur Hälfte oder zu zwei Drittel ihrer Länge bedeutend dicker ist (Fig. 24), als in ihrem weiteren Verlaufe. Dies ist nur dadurch zu erklären, daß Geißeln von verschiedener Länge zusammenkleben, so daß eine längere Geißel, die allein natürlich dünner ist, als die Gesamtheit der Geißeln über die übrigen hinausragt. Tatsächlich kann man denn auch häufig beobachten, daß Teile der Geißelverbände sich loslösen, daß ein dicker Geißelstrang sich in zwei oder mehrere dünne Fäden spaltet. Und zwar spielt hier bei der Bildung der Zöpfe die Zähflüssigkeit des Mediums eine gewisse Rolle. In zähflüssigen Medien, z. B. in verflüssigter Nährgelatine von 5 Proz. Gelatinegehalt, erscheinen stets nur weniger und dickere Geißeln, als in der Lösung von geringerem Gelatinegehalt, oder als im Agarkondenswasser. Ja man kann das Entfalten der Geißeln durch Verdünnung des Mediums willkürlich hervorrufen. Läßt man z. B. bei einem Präparate, das mit zähflüssiger Nährgelatine hergestellt wurde, von der Seite her destilliertes Wasser oder Bouillon zufließen, so beobachtet man sofort an den Stellen, wo Verdünnung eingetreten ist, ein Entfalten der Geißelstränge, es treten hernach allgemein viel mehr und zartere Geißeln auf. Man kann unter den allergünstigsten Bedingungen auch bei Typhusbacillen ein vollständiges Entfalten der Geißelzöpfe wahrnehmen, so wie dies bei Spirillum volutans oft zu beobachten ist. Bei ganz reinem schwarzen Untergrunde und in ganz dünner Flüssigkeitsschicht (Agarkondenswasser) konnte beim allmählichen Austrocknen des Präparates die völlige Entfaltung der Geißeln der zur Ruhe gekommenen und am Objektträger ausgeschiedenen Bacillen verfolgt werden. Es traten allgemein an jedem einzelnen Individuum 8—10 äußerst zarte Geißeln auf. Doch ist es bei der großen Zartheit der Bacillengeißeln viel schwerer, die Entfaltung zur Darstellung zu bringen, als dies bei den Spirillen der Fall ist.

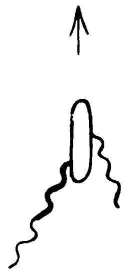


Fig. 24.

Die Sichtbarmachung der Bacillengeißeln wird aber ebensowenig wie diejenige der Geißeln von Spirillen durch die Zopfbildung allein bedingt. Dies geht daraus hervor, daß die Bacillengeißeln in $2^1/_2$-proz. reiner Gelatinelösung, die eine ziemlich zähflüssige Konsistenz besitzt, und in der sicher eine starke Zopfbildung eintritt, nicht zu sehen sind.

Nun hat es sich bei den mit Spirillen durchgeführten im Abschnitt IV beschriebenen Versuchen herausgestellt, daß die im Aufschwemmungsmedium gelösten Substanzen eine Zustandsänderung des Geißelplasmas hervorrufen bezw. daß sie an den Geißeln adsorbiert werden. Dabei traten die diesbezüglichen Wirkungen bei Elektrolyten stärker hervor als bei Nichtelektrolyten. Bei den Bacillen erweisen sich die Elektrolyte an und für sich zum größten Teile ohne Wirkung auf die Geißeln. Erst in Gegenwart von Kolloiden tritt eine Darstellungswirkung ein. Man könnte infolgedessen diesbezüglich zu der folgenden Auffassung kommen: Bei den Bacillen gehen die Geißeln in gleichmäßiger Verteilung vom Körper aus, jedenfalls entspringen sie in bedeutend geringerer Anzahl von ein und derselben Stelle der Membran, als dies bei den Bakterien mit polaren Geißelbüscheln der Fall ist. Demnach tritt bei den ersteren bei der Bewegung auch nur geringere Zopfbildung ein, als bei den letzteren. Gelangen die Bacillen in kolloidale Lösungen, die eine ziemlich zähflüssige Konsistenz besitzen, dann erfolgt eine bedeutend stärkere Zopfbildung. Bei kürzeren Bacillen vereinigen sich zumeist sämtliche Geißeln zu einem dicken Strange. Man hat dies gewissermaßen als eine Reaktion auf die steifere Konsistenz des Mediums aufzufassen; denn eine dickere Geißel wird den größeren Widerstand des Mediums leichter überwinden, sich besser durchschrauben können als eine dünne.

An den so verdickten Geißeln wird dann die Einwirkung der Elektrolyte, die bei den Spirillengeißeln festgestellt wurde, auch hier zum Vorschein kommen. Diese Wirkung dürfte noch verstärkt werden durch diejenige, welche, wie im vorhergehenden erwähnt wurde, bei den Bacillengeißeln in kolloidalen Lösungen schon an und für sich eintritt, und die auch als eine Art Adsorptionswirkung aufzufassen ist.

2. Gestalt der Geißeln.

Die Bacillengeißeln haben ebenso wie diejenigen der Spirillen die Gestalt von rechtsgewundenen Schraubenlinien, doch weisen jene stets eine viel größere Anzahl von Schraubengängen auf, als diese sie normalerweise besitzen. Geißeln mit 1—2 Windungen sind bei den Bacillen fast niemals zu beobachten, ebenso bekommt man sehr selten solche mit nur drei Windungen zu sehen. Durchschnittlich trifft man Geißeln mit 4—5 Windungen am meisten an, doch erscheinen auch häufig solche mit 6—7 Windungen, während abgerissene Geißeln oft bis zu 12 aufweisen.

Die Höhe eines Schraubenganges beträgt an in Ruhe befindlichen Geißeln bei Typhus 2,5 μ, bei Proteus 2 μ. Es ergibt sich daraus, daß die mittlere Länge der Geißeln (direkte Entfernung der beiden Endpunkte) bei Typhus 12,5 μ, bei Proteus 10 μ beträgt. Die Bacillengeißeln kommen auf diese Weise in ihrer Länge durchschnittlich den normalen Spirillengeißeln mit 10—12 μ gleich. Absolut aber übertreffen die ersteren an Länge die letzteren bedeutend. Denn der Durchmesser des Zylinders, um den die Geißel gewurden ist, beträgt bei Typhus etwa 1,5 μ, bei Spirillum volutans 3 μ. Daraus ergibt sich bei Typhus für eine Geißel von 5 Windungen eine absolute Länge von 26,5 μ (die absolute Länge einer Windung ist $= 5{,}3\ \mu$), bei Spirillum volutans für eine Geißel von einer Windung, deren Höhe $= 9\ \mu$ ist, 13 μ und bei $1^1/_2$ Windungen (Höhe $= 13{,}5\ \mu$) 19,5 μ. Demgemäß übertrifft auch die Längserstreckung der Geißeln (der Abstand ihrer Endpunkte) bei den Bacillen durchschnittlich die normale Körperlänge (6—9 μ). An ein und demselben Stäbchen kommen sehr häufig verschieden lange Geißeln vor, so daß sowohl, wie oben erwähnt wurde, mitunter die Geißeln eines Zopfes von ungleicher Länge sind, als auch die einzelnen Zöpfe untereinander verschiedene Länge aufweisen [1]). Was die Länge der Geißeln in bezug zu derjenigen des Körpers anbelangt, so kann man ganz allgemein beobachten, daß Stäbchen von geringer Länge (4,5—6 μ) sowohl im Verhältnis zum Körper, als auch absolut sehr lange Geißeln besitzen, deren Länge diejenige des Körpers um das 2—3-fache übertrifft, bei Stäbchen von mittlerer Länge (6—9 μ) kommt die Geißellänge derjenigen des Körpers etwa gleich oder übertrifft sie nur um weniges. Die ganz langen Formen besitzen dagegen sowohl absolut als auch im Verhältnis zum Körper die kürzesten Geißeln [2]).

Die Geißelzöpfe erscheinen auch am selben Individuum sehr oft verschieden dick, was auf die verschieden große Zahl von Einzelgeißeln

---

1) Die Erklärung für diese Erscheinungen könnte man vielleicht in der Weise finden, daß beim Wachstum der Stäbchen vor der Teilung neue Geißeln entstehen, die natürlich zunächst kürzer sind als die alten bereits vorhandenen, und die mit diesen oder untereinander zu Zöpfen zusammentreten.

2) Dieser Umstand gilt hier ebenso wie bei den Spirillen, und es sei bezüglich seiner Erklärung auf die gegebenen Darlegungen verwiesen.

bei den einzelnen Zöpfen zurückzuführen ist. Die Einzelgeißeln selbst dürften aber wohl stets die gleiche Dicke besitzen, ähnlich wie dies auch bei Spirillen der Fall ist. Dies bestätigen auch die Färbepräparate.

3. Die Bewegungserscheinungen bei den Bacillen.

Zur Beobachtung der Bewegungserscheinungen bei den Bacillen eignet sich am besten Typhus oder Proteus vulgaris, der erstere wegen seiner verhältnismäßig groben Geißeln, der letztere wegen seines unheueren Geißelreichtums. Betrachtet man in Bewegung befindliche Bacillen einer dieser beiden Arten, so erhält man im allgemeinen den Eindruck, daß sie bei der Vorwärtsbewegung keine vollständigen Drehungen, sondern ein bloßes Pendeln um die Längsachse vollführen. Die Geißeln erscheinen stets nach rückwärts gerichtet. An den kürzeren Stäbchen ist meist nur eine lange Geißel wahrzunehmen. Dieselbe schwingt in regelmäßiger Weise seitlich hin und her und der Körper schwingt im gleichen Takte, aber mit seinem hinteren Ende stets nach der entgegengesetzten Seite wie die Geißel ebenfalls hin und her. Auch wenn mehrere Geißeln zu sehen sind, ist ein derartiges taktmäßiges Hin- und Hergehen zu beobachten. Allerdings erscheint es in diesem Falle, als würden die Geißeln einen Kegelmantel umfahren, dessen Spitze im Ansatzpunkte der Geißeln am Körper gelegen ist und dessen Achse schräg nach ab- und rückwärts zu letzterem gestellt ist. Hat man es mit gebogenen Formen zu tun, so gelangt man zu der Auffassung, daß dieselben nicht nur seitlich hin- und herschwingen, sondern sich auch etwas um ihre Längsachse hin- und zurückdrehen, daß sie also um dieselbe gewissermaßen pendeln.

Nun wäre es allerdings nur schwer zu erklären, wodurch ein derartiges Pendeln zustande kommen würde. Man müßte denn annehmen, daß in dem Augenblicke, in dem die Drehung des Körpers in die entgegengesetzte umschlägt, auch die Geißeln im entgegengesetzten Sinne zu rotieren beginnen würden. Ein derartiges Verhalten der Geißeln erscheint aber sehr unwahrscheinlich. Auch ist es nicht denkbar, daß die Geißeln durch ihr seitliches Hin- und Herschwingen, falls sie dabei auch Kegelmäntel beschreiben würden, die durch ihre eigene Rotation bedingte Achsendrehung des Körpers aufheben könnten. Denn wie die auf den Körper einwirkenden Kräfte bezw. Drehpaare sich auch zusammensetzen und gegenseitig aufheben würden, so müßte doch stets ein Ueberwiegen der Wirkung in der Richtung derjenigen Kräfte verbleiben, die, stets im gleichen Sinne wirkend, die Achsendrehung des Körpers hervorrufen sollten. Wenn man auch schließlich annehmen könnte, daß z. B. Geißeln zu einem Zopfe verflochten werden, die von verschiedenen Stellen des Körpers, und zwar sowohl von der oberen und unteren Seite, als auch von mittleren Partieen benachbarter Querzonen ausgehen, und daß dieselben beim Hin- und Herschwingen einen gewissen Zug auf den Körper ausüben und ihn dadurch vielleicht um seine Längsachse hin- und zurückdrehen würden, während die durch die Geißelrotation bedingte Achsendrehung des Körpers infolge irgendeines Umstandes aufgehoben sein würde, so würde diese Annahme doch hinfällig werden, durch den Umstand, daß bei den Stäbchen mit einer Mehrzahl von Geißeln stets ein Teil derselben sich nach der entgegengesetzten Seite bewegt, wie die anderen, und trotzdem ein Pendeln des Körpers um die Längsachse stattzufinden scheint.

Auch hier kann die Entscheidung der tatsächlichen Verhältnisse nur durch die Beobachtung der in langsamer Bewegung befindlichen Individuen getroffen werden. Für den vorliegenden Zweck eignet sich am vorteilhaftesten die Beobachtung der langen Formen, die Proteus vulgaris unter Umständen ausbildet. Dieselben bewegen sich zumeist nur ganz langsam und bedächtig dahin, so daß man jede einzelne Phase ihrer Bewegung bequem zu verfolgen imstande ist, und außerdem sind sie zumeist etwas gebogen, wodurch die richtige Beurteilung ihrer Bewegungen sehr erleichtert wird.

Proteus entwickelt bekanntlich eine außerordentlich starke Wachstums- und Vermehrungsintensität und er überwuchert die Oberfläche fester Nährböden vollständig. Um in der Kultur möglichst viele lange Individuen zu erhalten, muß man nach Zettnows Angabe beim Anlegen derselben folgendermaßen verfahren: Man überträgt mit Hilfe eines Platindrahtes etwas Bakterienmaterial auf einen schrägen Agarnährboden in der Weise, daß man mit der Spitze des Drahtes einmal in einem Striche an einer Seite der Oberfläche (der rechten oder der linken) entlang fährt, ohne jedoch das Kondenswasser zu berühren. Es ist von Vorteil, wasserreiche Nährböden in Anwendung zu ziehen, z. B. solche, die mit der anderthalbfachen der gewöhnlichen Flüssigkeitsmenge angesetzt wurden. Nach etwa 12-stündigem Verweilen der Kultur im Brutschranke bei 28° C hat sich auf der ganzen Oberfläche des Nährbodens ein weißlicher Bakterienbelag gebildet. Desgleichen erscheint das Kondenswasser schwach getrübt. Es finden sich dann besonders auf jeder Seite der Oberfläche, auf welche kein Bakterienmaterial übertragen wurde, und an welcher die Entwickelung der Bakterien noch jüngeren Datums ist, zahlreiche lange Formen, ebenso trifft man ihrer viele im Kondenswaser an.

Zur Beobachtung bringt man auf einen gut gereinigten Objektträger einen nicht allzu großen Tropfen sterilen Kondenswassers oder flüssiger Nährgelatine. Man entnimmt hierauf mit einem Platindrahte etwas Bakterienmaterial von der Oberfläche oder vom Kondenswasser der Kultur und überträgt eine Spur davon in den Tropfen derart, daß man diesen mit der Spitze des Drahtes eben nur berührt. Man kann dann direkt auf den Tropfen ein Deckglas stülpen und man wird am Rande des Präparates stets Stellen finden, an denen die Bakterien nur in geringer Zahl vorhanden sind, so daß man jedes einzelne Individuum leicht verfolgen kann. Erscheinen die Bakterien nur wenig beweglich, so verfährt man zunächst genau so, wie eben angegeben wurde, hält sich jedoch noch eine Platinöse mit sterilem Kondenswasser bereit und vermischt deren Inhalt mit der Aufschwemmung am Objektträger. Man erhält dann eine stärkere Beweglichkeit der Bakterien im Präparate. Von Wichtigkeit für die Beweglichkeit der Bakterien ist auch der Umstand, daß die Kultur nicht unter Zimmertemperatur abgekühlt wird.

An den langen gebogenen Formen erkennt man nun ganz deutlich, daß sie volle Rotation ausführen, und zwar stets links herum, ebenso wie die übrigen Bakterien. Die Geißeln, die von allen möglichen Stellen der Längswand entspringen und in Bezug zur Körperachse nach allen Seiten hin verlaufen, sind stets nach rückwärts gerichtet und machen die Drehung des Körpers mit. Es ergibt sich daraus, daß die obigen Erscheinungen vom Pendeln des Körpers und vom Hin- und Herschwingen der Geißeln auf einer optischen Täuschung beruhen. Allerdings vermeint man auch bei den langen Proteus-Formen an den von mittleren Stellen der Längswand ausgehenden Geißeln im allgemeinen kein deutliches Herumdrehen um den Körper wahrzunehmen. Es erscheint vielmehr, daß die Geißeln stets unterhalb des Körpers verbleiben und dort Kegelmäntel umfahren. Aber an den weiter rückwärts entspringenden Geißeln, die über das Körperende hinausragen, beobachtet man ganz deutlich, wie sie im selben Sinne, in dem die Körperdrehung erfolgt, emporsteigen und sich wieder senken. Ebenso läßt sich zu jeder Zeit an Individuen, denen irgendein Fremdkörper, z. B. andere Stäbchen, ankleben, wahrnehmen, daß sie vollständige Linksdrehungen ausführen. Genau dieselben Beobachtungen kann man auch an solchen mit Fremdkörpern behafteten Typhusbacillen machen, oder an gebogenen Formen dieser Art, wenn sie sich nur langsam bewegen. Die Erklärung für die Bewegungsart der Bacillen fällt nun auch nicht mehr schwer.

Es sei zunächst hervorgehoben, daß man niemals weder an den lebenden, noch an den mit Hämatein gefärbten Bacillen polare Geißeln wahrnehmen kann, die letzteren gehen vielmehr stets nur von Stellen der Längswand aus. Sie sind stets schraubenförmig gewunden und sie vollführen bei der Bewegung stets volle Rotation, und zwar im allgemeinen wohl rechts herum (von rückwärts gesehen)[1]. Daraus ergibt sich, daß die Auffassung, die Migula (8, p. 111) bezüglich der Geißelbewegung der Bacillen entwickelt, nicht angängig ist. (Migula nimmt an, daß die Bacillen polare und Seitengeißeln besitzen. Nur die ersteren seien schraubenförmig gewunden und rotieren. Sie bedingen die Drehung des Körpers um seine Längsachse. Die letzteren dagegen haben Wellenform und ihre Kontraktionen finden nur in einer Ebene statt.)

Betrachtet man zunächst ein Individuum mit einem einzigen Geißelzopfe, der von irgendeiner Stelle der Längswand ausgeht, so ist es ganz klar, daß die Geißel infolge ihrer rechtsgängigen Schraubenform und infolge ihrer Rechtsrotation, gleichgültig, welche Stellung sie auch zum Körper einnimmt, eine Drehung des letzteren um die Schraubenachse links herum hervorrufen wird. Bezüglich des Zustandekommens dieser Drehung und der weiteren Einwirkungen der Geißel auf den Körper müssen dieselben Betrachtungen gelten, wie sie im Abschnitte VI für die polarbegeißelten Bakterien angestellt worden sind. Auch hier lassen sich an der Geißel die parallel und entgegengesetzt gerichteten gleich großen Querkomponenten (die zur Geißelschraubenachse senkrecht wirkenden Komponenten), deren Angriffspunkte um eine halbe Schraubenganghöhe voneinander abstehen, zu Kräftepaaren zusammensetzen. Ebenso lassen sich für die alleinstehenden Querkomponenten (für welche eine zweite Kraft zur Bildung eines Drehpaares nicht vorhanden ist) durch die Hilfskonstruktion Kräftepaare ableiten, wobei noch eine an der Körpermitte einsetzende seitliche Kraft übrig bleibt. Alle Kräftepaare lassen sich wieder in den Körper verlegen und zu einer Resultierenden zusammensetzen. Diese wird in zwei Komponenten zerlegt, von denen die eine, deren Achse in die Achse der Geißelschraube fällt und dementsprechend Drehung um diese Achse bewirkt, während die andere Komponente eine Trichterbewegung des Körpers hervorruft.

Betrachtet man den Verlauf der Trichterbewegung zusammen mit der Drehung des Körpers um die Achse der Geißelschraube, dann wird, wenn die Lage der Geißel im ersten Augenblicke parallel zur Körperachse angenommen wird und die Geißel an der unteren Körperseite entspringt, der Körper sich um die Geißel als Achse nach links drehen (s. Fig. 25a und b) und infolge der Trichterbewegung beispielsweise veranlaßt werden, sich mit dem hinteren Ende *h* nach links, mit dem vorderen Ende *v* nach rechts zu bewegen (Fig. 25c). Im nächsten Augenblicke, wenn der Körper infolge der Drehbewegung etwa gerade unterhalb der Geißel zu liegen kommt (Fig. 25d), müßte sein hinteres Ende gehoben und sein vorderes gesenkt werden. Er wird also wieder ganz nahe an die Geißel zu liegen kommen. Nach einer weiteren Viertelphase der Bewegung wird der Körper rechts von der Geißel stehen und sein hinteres Ende nach rechts,

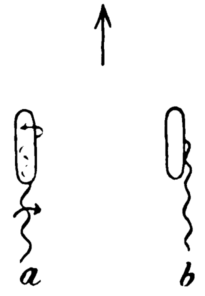


Fig. 25.

---

[1] An den in Bewegung befindlichen Bacillen erhält man die Auffassung, daß die Geißeln in Büscheln von gewissen Punkten der Längswand ausgehen. Durch diesen Umstand würde sich auch die leichte Zopfbildung der Bacillen erklären.

das vordere nach links getrieben werden (Fig. 25e). Nach dem nächsten Phasenviertel wird er wieder oberhalb der Geißel zu liegen kommen, sein hinteres Ende aber gesenkt, das vordere gehoben werden, so daß er der Geißel wieder knapp anliegt, so wie in der Ausgangslage (Fig. 25f).

Aus dieser Betrachtung geht deutlich hervor, daß man tatsächlich infolge der Uebereinanderlagerung der beiden Bewegungsvorgänge außerordentlich leicht den Eindruck erhalten kann, als schwinge der Körper um den Geißelansatzpunkt seitlich hin und her und als weiche die Geißel stets nach der entgegengesetzten Seite aus. Man erhält so das Bild jener schwankenden Bewegung, die man insbesondere an kurzen Formen von Typhus, die nur mit einer Geißel versehen sind, unzählige Male zu sehen bekommt.

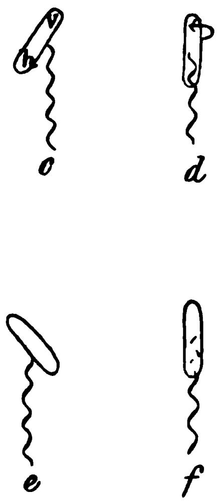


Fig. 25.

Zu dieser Bewegung kommt dann wohl zumeist noch eine Seitenverschiebung des Körpers infolge der an der Körpermitte einsetzenden Seitenkraft, die bei Geißeln entsteht, welche keine volle Zahl von Schraubengängen besitzen. Dadurch werden alle möglichen Bewegungserscheinungen entstehen, und zwar wird man beobachten, daß je nach der Lage des Ansatzpunktes der Geißeln die letzteren sich nach der entgegengesetzten Seite bewegen wie das hintere Körperende, oder umgekehrt. Dabei wird die Geißel in ihrer Lage um so mehr von der Bahn der Vorwärtsbewegung abweichen, je mehr sie von der Körpermitte absteht, da sie ja die Trichterbewegung des Körpers mitmachen muß. Befindet sich z. B. die Geißel näher dem rückwärtigen Körperende, dann wird ihr Ansatzpunkt in der ersten der oben in Betracht gezogenen Lagen derart mitgenommen werden, daß ein Bild entsteht, als schwinge die Geißel nach rechts und der Körper nach links (s. Fig. 26a). Ebenso wird nach Ablauf einer halben Phase in Lage 3 die Erscheinung zutage treten, als wenn der Körper nach rechts, die Geißel nach links zur Seite schwingen würde (Fig. 26b), Bilder, die man sehr häufig zu sehen bekommt. Die Beobachtung lehrt, daß fast stets Geißel und Körper, wenn auch nicht so stark, wie es hier gezeichnet wurde, in ähnlicher Weise nach entgegengesetzten Seiten um die Bahn der Vorwärtsbewegung hin- und herschwanken. Seltener nimmt man wahr, daß Geißel und Körper sich gleichzeitig im gleichen Sinne zur Seite bewegen und einander beinahe parallel bleiben, wie dies der Fall sein muß, wenn die Geißel näher dem vorderen Ende entspringt. Es ergibt sich daraus, daß die Geißeln im allgemeinen mehr von rückwärtigen Körperpunkten ihren Ausgang nehmen. Es ergibt sich auch hier wieder, wie dies schon bei Besprechung der Bewegungserscheinungen polarbegeißelter Bakterien hervorgehoben wurde, daß in dem Falle, in dem die Achse der Geißelschraube nicht in die Verlängerung der Körperachse fällt, sondern mit dieser einen gewissen Winkel einschließt, die Trichterbewegung des Körpers bald verstärkt (in $^3/_4$ der Fälle) bald verringert wird. Und zwar wird dies wie dort abhängen vom gegenseitigen Phasenzustand der Rotation und der Trichterbewegung der Geißel.

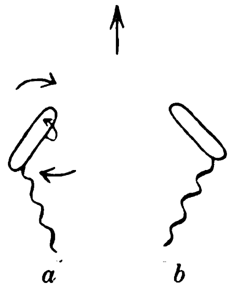


Fig. 26.

Gehen aber zwei Geißelzöpfe von zwei verschiedenen Stellen der Längswand des Körpers aus, etwa von 2 diametral gegenüberliegenden

Stellen ein und derselben Querzone, dann muß der Körper in jedem Augenblicke gleichzeitig den von beiden Geißeln auf ihn ausgeübten Einwirkungen Folge leisten. Man hat dann einfach wieder die entsprechenden Drehpaarkomponenten zusammenzusetzen. Nimmt man an, daß die beiden Geißeln sich beispielsweise in derselben Horizontalebene befinden, und mit dem Körper gleichgerichtet sind, also an ihm entlang nach rückwärts verlaufen (s. Fig. 27), und betrachtet man die Einwirkung der beiden Geißeln nacheinander, dann wird der Körper z. B. infolge der Einwirkung der linken Geißel sich zunächst um diese als Achse links herum drehen, so daß er bald über die Geißel zu liegen kommt (Fig. 27 b). Die rechte Geißel muß diese Drehung des Körpers mitmachen. Ebenso wird der Körper sich auch um die rechte Geißel als Achse drehen, so daß er rechts von ihr zu liegen kommt, während die ursprünglich linke Geißel diese Bewegung mitmacht (Fig. 27 c). Das Ergebnis der Einwirkung beider Geißeln wird also in einer Weise ein Drehen des Körpers um seine Längsachse sein, welche die Geißeln mitmachen müssen, so daß sie gewissermaßen um ihn herumwandern. Zu dieser Achsendrehung des Körpers kommt dann natürlich noch die Trichterbewegung hinzu. Dieselbe wird in verschieden starker Weise zur Geltung kommen, je nach der Länge der Geißeln, ob dieselben gerade eine volle Anzahl von Windungen besitzen ferner je nach dem gegenseitigen Phasenzustande der Geißelrotation.

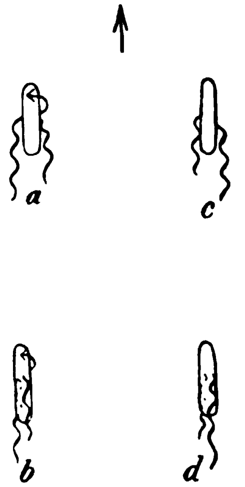


Fig. 27.

Es kann also z. B. der Fall vorkommen, daß bei gleicher Geißellänge die gegenseitigen Einwirkungen bezüglich der Trichterbewegung sich vollkommen aufheben. Dann muß der Körper ruhig um seine Längsachse rotierend ohne jedes Schwanken sich vorwärts bewegen. Dieser Vorgang ist wohl mitunter auch zu beobachten. Zumeist findet aber ein mehr oder minder starkes Schwanken des Körpers, eine mehr oder minder stark ausgesprochene Trichterbewegung statt. Die Geißeln gehen dabei zumeist nicht von der gleichen, sondern von verschiedenen Querzonen des Körpers aus, so daß die eine näher dem vorderen, die andere näher dem hinteren Ende entspringt (s. Fig. 28).

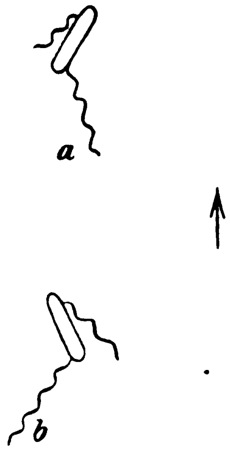


Fig. 28.

Es ist ganz klar, daß sich genau dieselben Verhältnisse ergeben werden, wenn drei oder eine größere Anzahl von Geißeln vom Körper ausgehen. Jede derselben wird einen entsprechenden Beitrag zur Achsendrehung und zur Trichterbewegung des Körpers liefern, die sich alle entsprechend zusammensetzen. Bei sehr langen Stäben, so wie sie Proteus ausbildet, findet zumeist nur ein geringes seitliches Abweichen von der Bahn der Vorwärtsbewegung statt. Dies ist erklärlich, denn vermag eine einzelne Geißel infolge des großen Trägheitsmomentes des Körpers auf ihn nur eine verhältnismäßig schwache Wirkung hervorzubringen, so werden die Bewegungsmomente der oft in ungeheurer Zahl von derartigen Bakterien ausgehenden Geißeln zumeist nach ganz verschiedenen Richtungen wirken und sich infolgedessen gegenseitig beinahe aufheben.

Es sei noch darauf hingewiesen, daß sich auch bei den Bacillen ähnliche Erscheinungen bezüglich der Form der Geißel wahrnehmen lassen, wie dies bei den Spirillen angeführt worden ist. Auch hier erscheint die Geißel um so flacher und länger gestreckt, je rascher die Bewegung von statten geht. Die normale Schraubenform, deren Ausmaße im vorhergehenden angegeben worden sind, tritt erst bei langsamer Bewegung oder beim völligen Einstellen der Bewegung zutage. Ebenso kommt auch die Trichterbewegung bei Verlangsamung der Vorwärtsbewegung bedeutend mehr zur Geltung. Je langsamer die Stäbchen sich vorwärts bewegen, desto mehr schwanken sie zur Seite hin und her, so daß schließlich der Körper unter einen Winkel von 90° zur Bahn der Vorwärtsbewegung zu stehen kommt und sich schließlich um 180° herum in die entgegengesetzte Lage dreht. Die Bewegung geht in diesem Falle dabei immer nur absatzweise von statten. Es findet eine Zeitlang Geradeausbewegung statt unter mühsamem Hin- und Herwinden bald nach der einen, bald nach der anderen Seite, bis dann schließlich der Körper die senkrechte Lage erreicht und sich schließlich ganz herumdreht. Danach tritt zumeist eine kleine Pause ein, und das Spiel beginnt von neuem. Oft auch kommt es vor, daß der Körper, wenn er dabei in eine zur Geißel senkrechte Lage gerät, eine Zeitlang in dieser Lage um die Geißel als Achse rotiert. Oft ist ein eigentümliches Kollern des Körpers wahrzunehmen, derart, daß er sich mehrere Male hintereinander jeweils um das nach einer bestimmten Richtung gelegene Ende um 180° herumdreht, so daß er immer in die Verlängerung seiner ursprünglichen Lage zu stehen kommt. Man faßt diese Erscheinungen, die stets beim allmählichen Einstellen der Bewegung der Bacillen in älteren Präparaten zu beobachten sind, unter dem Namen Fischwerfen zusammen, denn es findet hier ein ebenso unstetes Hin- und Herwerfen des Körpers statt, wie dies bei Fischen wahrzunehmen ist, die auf trockenen Boden gebracht werden. Dabei findet zumeist ein mehr oder minder vollständiges Entfalten der Geißelzöpfe statt. Alle diese Vorgänge erklären sich aus dem Umstande, daß infolge der geringen Drehbewegung und der weiteren Ausbauchung der Geißel die Trichterbewegung überhand nimmt.

Was das Umkehren der Bewegungsrichtung bei den Bacillen anbelangt, so geht dasselbe, da eine Bewegung mit nach vorn gerichteten Geißeln niemals beobachtet wurde, die Geißeln also stets im selben Sinne rotieren müssen, niemals so rasch von statten, wie bei den polarbegeißelten Bakterien. Es muß vielmehr behufs Umkehren der Bewegungsrichtung die Bewegung erst einen Augenblick ganz aussetzen, dann werden alle Geißeln zugleich oder nur ein dickerer Geißelstrang allein nach vorn gestellt und in Betätigung versetzt (s. Fig. 29), worauf die Bewegung des Körpers in der entgegengesetzten Richtung wie vorher weitergeführt wird, ohne daß der Körper seine Lage verändert, und jene Geißeln, die gegebenenfalls nicht gleich nach der anderen Seite gestellt worden waren, mitgenommen werden und dann ebenfalls zu rotieren beginnen. Mitunter kommt es auch vor, besonders dann, wenn alle Geißeln zu gleicher Zeit in die entgegengesetzte Richtung gekehrt werden und dabei noch in Rotation verharren, daß die Geißeln

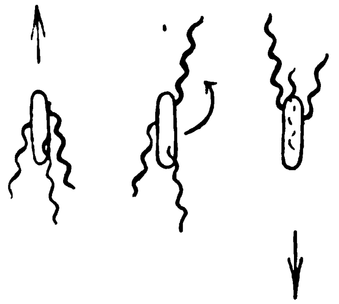


Fig. 29.

sich in einem Sinne um 180° drehen, während zugleich der Körper im entgegengesetzten Sinne eine ebensolche Drehung vollführt (Fig. 30).

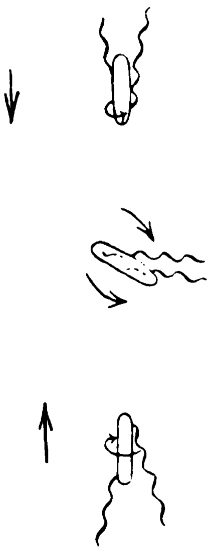


Fig. 30.

Bei den längeren Formen, so wie sie Proteus vulgaris ausbildet, findet vor dem vollständigen Einstellen der Bewegung kein Fischwerfen statt, wohl aber wird die Drehbewegung des Körpers schon einige Augenblicke, bevor der letztere vollkommen zur Ruhe kommt, aufgehoben. Die Geißeln arbeiten dann bedeutend langsamer, sie bleiben aber noch in der Lage, in der sie sich zuletzt bei rascher Bewegung befunden haben, nämlich schräg nach rückwärts vom Körper abstehend und der Körper gleitet noch eine Weile geradeaus vorwärts. Man kann an solchen Individuen mit großer Deutlichkeit wahrnehmen, wie die schraubig gewellten Geißeln rotieren bezw. von Kontraktionen durchzogen werden. Es ist, als würden die Geißel entlang vom Körper aus gegen die Spitze zu kurze, aufeinanderfolgende Impulse dahineilen. Die Geißeln werden dabei aber auch immer etwas seitlich hin und her bewegt, und infolgedessen wird auch der Körper etwas seitlich in Bewegung versetzt. Da diese Bewegungsimpulse auf den Körper von allen möglichen Seiten aus nach verschiedenen Richtungen wirken, so gerät derselbe dadurch in jenes eigentümliche Zittern, welches schon Migula beobachtet hat und in seinem System der Bakterien. Bd. I. p. 112 beschreibt. Aber eigentlich ist nicht das seitliche Hin- und Herschwingen der Geißeln das Primäre, sondern man hat sich vielmehr vorzustellen, daß durch die allerdings nur langsame Rotation der Geißeln nur geringe Drehmomente und Kräfte auf den Körper ausgeübt werden, die zu schwach sind, um ihn in Drehung zu versetzen. Nur die in die Längsrichtung des Körpers fallenden Komponenten vereinigen sich und bewirken die schwache Vorwärtsbewegung, die seitlichen Komponenten aber verursachen das Zittern des Körpers, und bei dieser Seitenbewegung werden natürlich auch die Geißeln mitgenommen und scheinen infolgedessen selbst seitliche Bewegungen auszuführen. Das Dahingleiten des Körpers dauert nicht lange an; denn es werden bald einzelne Geißeln nach vorne und zur Seite gestellt, so daß sie den übrigen Geißeln entgegenwirken. Wenn die Bewegung schließlich vollständig erlischt, dann erscheinen die Geißeln nach allen Seiten vom Körper weggestreckt, und zwar zumeist die mehr vorn befindlichen Geißeln nach vorne, die von rückwärts entspringenden nach hinten, die mittleren Geißeln zur Seite. In einem derartigen Zustande bekommt man die Bakterien auch sehr häufig in den Färbepräparaten zu sehen. Die Erklärung ergibt sich dafür ganz einfach aus den eben geschilderten Vorgängen beim allmählichen Absterben der Bacillen, so wie dieses ja auch beim Eintrocknen des Präparates eintreten muß. Bei der Bewegung aber — und darauf sei noch ausdrücklich hingewiesen — sind die Geißeln der Bacillen jederzeit nur nach rückwärts gestellt.

XI. Die Bewegung und die Geißeln bei den Sarcinen.

Untersucht wurde Sarcina mobilis Schaudinni und Sarcina Haeckeli. Die beiden Arten, die einander sehr ähnlich sind, zeigen dieselben Erscheinungen. Die Sarcinen sind fast stets zu Paketen vereinigt. Bei der Bewegung sind nur die Geißelzöpfe, niemals die Einzelgeißeln zu sehen. Denn die letzteren sind auch viel zu zart, als daß sie zur Wahrnehmung kommen könnten. Diese Zöpfe sind durchschnittlich 12—18 μ lang (in direkter Entfernung von einem zum anderen Ende gerechnet). Im allgemeinen geht von jedem Teilindividuum der Pakete je ein Geißelzopf aus. Die Geißeln besitzen die Gestalt von rechtsgängigen Schraubenlinien, bei der Bewegung rotieren sie rechts herum. An abgestorbenen Individuen sind die Schraubenwindungen bald enger, bald weiter. Die Höhe eines Schraubenganges beträgt zumeist 3 μ, mitunter aber auch nur 2 μ oder 1,8 μ.

In frischen Präparaten findet energische Vorwärtsbewegung statt. Dabei sind die Geißeln stets nach rückwärts gerichtet, und sie arbeiten untereinander ziemlich gleichmäßig, so daß sie sich in ihren Wirkungen gegenseitig unterstützen. Dabei rotieren die Pakete im allgemeinen links herum (von hinten gesehen = entgegen dem Uhrzeigersinne) um eine etwa in die Mitte des Paketes fallende Achse. Doch wechselt bei rascher Vorwärtsbewegung die Drehungsachse sehr oft ihre Lage im Paket, sie fällt bald mit der Richtung der größten, bald mit der der geringsten Ausdehnung des Paketes zusammen, bald mit irgendeiner anderen Richtung. Die Geißeln machen naturgemäß die Drehbewegung der Pakete bezw. der Teilindividuen, von denen sie entspringen, mit.

Sowie sich aber die Bewegung der Sarcinen verlangsamt, stellt sich ein unaufhörliches Aendern der Drehungsachse ein. Die Pakete kollern dann gewissermaßen herum, sie drehen sich ruckweise, bald links, bald rechts herum, bald um eine horizontale oder vertikale, bald um eine anders orientierte Achse. Es findet dann keine rechte Vorwärtsbewegung mehr statt, sondern bloß ein unstetes Hin- und Herrollen, bald nach dieser, bald nach jener Richtung hin. Diese Erscheinung erklärt sich durch das ungleichmäßige Zusammenarbeiten der Geißeln der verschiedenen Teilpakete, die dabei häufig nach vorn gespreizt werden, so daß sie oft in entgegengesetzter Weise wirken und die Bewegung für Augenblicke ganz unterbleibt, sowie durch die auch bei dieser Bakterienart bei langsamer Bewegung im stärkeren Maße einsetzende Trichterbewegung.

Nur sehr selten kann man in Bewegung befindliche Einzelindividuen sehen. Ihre Bewegung ist regelmäßig nach einer Richtung hin fortschreitend unter Drehung des Körpers, ähnlich wie bei polarbegeißelten Bakterien.

XII. Die Geißeln und die Bewegung der Spirochäten.

Bei den beiden untersuchten Spirochätenarten, nämlich bei Rekurrens- und bei Hühnerspirochäten (Sp. gallinarum) konnten, wie schon erwähnt, die Geißeln im Dunkelfelde gesehen werden. Doch sind niemals bei allen Individuen Geißeln wahrzunehmen. Direkt im Blute betrachtet, treten sie nur verhältnismäßig selten in Erscheinung. Viel häufiger sind sie zu sehen, wenn man das Blut mit Bouillon oder flüssiger Nährgelatine verdünnt. Sind die Spirochäten lebhaft beweglich, so scheint es, daß die Geißeln anfangs seltener und erst nach einiger Zeit zahlreicher auftreten.

Man kann an den Spirochäten zweierlei Arten von Endfortsätzen wahrnehmen:

1) Verhältnismäßig starre, stets schraubig gewundene Fäden, die ihre Gestalt stets beibehalten. Sie nehmen ihren Verlauf sowohl bei der Bewegung, als auch an den ruhenden Spirochäten stets in der Fortsetzung des Körpers, und ihre Gestalt stimmt bis auf die Querdimen-

sionen genau mit derjenigen des letzteren überein. Ihre Länge schwankt zwischen 1—8 vollen Schraubengängen, und zwar kommen ganz verschieden lange Geißeln auch an Spirochäten von ganz verschiedener Länge vor. Diese Organe sind wohl als echte Geißeln anzusprechen.

2) Daneben kommen sehr oft bedeutend zartere Fäden an den Enden vor, die keine feste Gestalt aufweisen. Ihre Länge ist außerordentlich verschieden. Sie treten folgendermaßen in Erscheinung: Bewegt sich eine Spirochäte nach einer gewissen Richtung hin, dann kommt an ihrem hinteren Ende ein gerade gestreckter dünner Faden zum Vorschein, der eine Zeitlang an Länge zunimmt, je weiter sich die Spirochäte vorwärts bewegt, bis er dann, wenn er gewissermaßen ganz abgewickelt ist, einfach nachgezogen wird. Er behält im allgemeinen gerade Gestalt bei. Kehrt die Spirochäte dann ihre Bewegung nach der entgegengesetzten Richtung um, so wird dieser Faden wieder um den Körper aufgewickelt, und häufig erscheint ein anderer Faden am entgegengesetzten Körperende. Diese Fäden erreichen oft eine ganz beträchtliche Länge, sie sind oft 3—4-mal so lang wie der Körper, mitunter erscheinen aber auch nur ganz kurze Fäden. Sehr selten kommt es vor, daß neben einer der oben beschriebenen echten Geißeln noch ein derartiger Faden auftritt, er nimmt dann von dem freien Geißelende seinen Ausgang. Man kann diese Fäden vielleicht als Ektoplasmafortsätze bezw. als Teilungsrückstände ansehen.

Der Umstand, daß die echten Geißeln bei den Spirochäten nicht allgemein auftreten, braucht nicht wunder zu nehmen, wenn man die große Flexibilität und die Gestalt des Spirochätenkörpers in Betracht zieht. Sehr häufig beobachtet man, daß der Körper in seiner Längenausdehnung keinen gleichmäßigen Verlauf nimmt, sondern daß auf einige regelmäßige Schraubenwindungen ein etwas gerade gestreckter Teil folgt, an den sich wieder regelmäßige Windungen anschließen. Bei fortgesetzter Geradeausbewegung in ein und derselben Richtung nimmt dann der Körper wieder in seiner ganzen Ausdehnung regelmäßig gewundene Form an. Der Spirochätenkörper ist eben außerordentlich biegsam und kontraktil. Er ist ferner in der Gestalt einer Schraubenlinie gewunden, er stellt also als Ganzes ein selbstbewegliches System vor, das sich, ähnlich wie dies die Bakteriengeißel allein tun würde, infolge seiner eigenen Kontraktion vorwärts bewegt. Es mag dahingestellt bleiben, ob dabei die ganze Membran kontraktil ist oder ob ein undulierender Faden vorhanden ist. Es ist klar, daß dann noch abgesonderte Bewegungsorgane wie Geißeln überflüssig sind, sie treten also hier nur rudimentär auf, ohne eine besondere Funktion zu haben, sie sind daher auch nicht allgemein nachzuweisen.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit „Ueber die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung“ führte zu folgenden Ergebnissen:

1) Es gelingt mit Hilfe des Spiegelkondensors die Geißeln vieler Bakterienarten im ungefärbten Zustande zur Darstellung zu bringen. Es sind jedoch dabei wesentliche Unterschiede in der Feinheit der Geißeln bei verschiedenen Bakterienarten festzustellen.

Die gröbsten Geißeln besitzen die Vibrionen. Ihre Geißeln sind bei Dunkelfeldbeleuchtung in allen Medien, selbst im destillierten Wasser, zu sehen.

Die Geißeln von Spirillum volutans sind im destillierten Wasser gar nicht und nur unvollkommen in Nichtelektrolytlösungen, sehr gut dagegen in den meisten Elektrolytlösungen von geringer Konzentration wahrzunehmen. Aehnlich verhält sich in dieser Beziehung Pseudomonas syncyanea. Die Geißeln der Bacillen und Sarcinen sind dagegen nur in Medien wahrzunehmen, die neben Elektrolyten auch kolloidale Substanzen von gewisser Viskosität enthalten.

Bei den Spirochäten treten neben echten Geißeln noch fädige Endfortsätze in Erscheinung.

Am besten sind die Geißeln aller Bakterienarten im Agarkondenswasser und in flüssiger Nährgelatine (von 1-proz. Gelatinegehalt) wahrzunehmen.

2) Ueber die Umstände, die das Sichtbarwerden der Geißeln bei Dunkelfeldbeleuchtung bedingen, wurden eingehende Versuche mit Spirillum volutans unternommen.

a) Es stellte sich heraus, daß bei der Sichtbarmachung der Geißeln weder die optischen noch die osmotischen Verhältnisse der Aufschwemmungsmedien eine Rolle spielen, von Bedeutung sind dabei vielmehr die chemischen Eigenschaften der im Aufschwemmungsmedium gelösten Substanzen. Die beste Darstellungswirkung besitzen gewisse Elektrolyte, und zwar die Säuren und die Salze. Die Nichtelektrolyte üben nur geringe Wirkung aus, gar keine dagegen starke Basen.

Bezüglich der Stärke der Einwirkung dieser Substanzen ergeben sich ähnliche Gesetzmäßigkeiten, so wie sie bei der Ausfällung von Suspensionen und Hydrosolen durch Elektrolyte gefunden wurden. Es geht daraus hervor, daß es sich bei der Geißeldarstellung um ähnliche Vorgänge handeln muß. Die Ausfällung geht immer einher mit einer Adsorption, und diese letztere hat zweifelsohne den Hauptanteil an der Sichtbarmachung der Geißeln.

b) Eine wesentliche Rolle bei der Sichtbarmachung der Geißeln spielt bei allen Bakterien, die eine Mehrzahl von Geißeln am einzelnen Individuum ausbilden, das Zusammenhaften der Einzelgeißeln zu dickeren Strängen, den sogenannten Zöpfen. Dies tritt jederzeit bei der Bewegung ein. Werden die Bakterien plötzlich abgetötet, so gelangen die Zöpfe nur in elektrolytfreien Medien zur Entfaltung. Die Elektrolyte verhindern dagegen die Entfaltung der Geißeln. Bei den Bacillen und Sarcinen ist die Zopfbildung unbedingte Voraussetzung zur Sichtbarmachung der Geißeln. Deshalb werden die letzteren nur in Medien von zähflüssiger Konsistenz sichtbar, in denen eine starke Zopfbildung eintritt.

3) Es wurden Versuche gemacht zur nativen Färbung der Geißeln. Dieselben verliefen resultatlos. Dagegen gelingt es sehr gut, die Geißeln an Bakterien zu beizen oder zu färben, die in Flüssigkeiten aufgeschwemmt sind. Am besten hat sich hierfür eine 5-proz. Hämateïnlösung und 7,5-proz. Brasileïnlösung bewährt.

4) Es wurden die Bewegungserscheinungen bei den Bakterien eingehend untersucht. Es ließen sich gewisse, bei allen Bakterienarten wiederkehrende Merkmale erkennen:

a) Die Geißeln sind stets in Form von rechtsgängigen Schraubenlinien gewunden und sie rotieren stets rechts herum (von rückwärts gesehen), d. h. die schraubenförmig gewundenen Kontraktionslinien umlaufen die Geißeln rechts herum.

b) Der Körper rotiert jederzeit links herum.

c) Die Geißeln sind bei der Bewegung zumeist nach rückwärts gerichtet. Bei Spirillen trifft dies jederzeit zu, gleichgültig, ob die Geißel am vorderen oder am rückwärtigen Körperpole entspringt.

Bei den Vibrionen erscheint die Geißel bald nach vorne, bald nach rückwärts gestellt, je nach der Orientierung des Geißelpoles. Pseudomonas syncyanea nimmt in dieser Beziehung eine Mittelstellung ein, da beide Vorgänge zu beobachten sind. Bei Bacillen und Sarcinen sind die Geißeln bei der Bewegung jederzeit nach rückwärts gerichtet. Dieses Verhalten hängt zweifellos mit der Steifheit der Geißeln zusammen.

d) Die Bakterien schwimmen im allgemeinen nicht ruhig dahin unter bloßer Drehung um die Längsachse, sondern sie weichen zumeist in periodischer Aufeinanderfolge seitlich von der Bahn der Vorwärtsbewegung etwas ab. Es entsteht die sogenannte Trichterbewegung. Die Ursache derselben wurde eingehend untersucht. Sie ist in der Gestalt und Anordnung der Geißeln zu suchen. Das seitliche Schwanken des Körpers ist um so stärker, je langsamer die Vorwärtsbewegung von statten geht. Es wird insbesondere vor dem vollständigen Erlöschen der Bewegung in älteren Präparaten äußerst stark, so daß die Bakterien sich fortwährend um eine Querachse um 180° herumdrehen.

e) Die Gestalt der Geißeln ist nicht konstant, im Ruhezustand und bei langsamer Bewegung ist die Geißel weiter ausgebaucht, bei rascher Bewegung dagegen ist sie flach gewunden.

Das Umkehren der Bewegung vollzieht sich bei den polarbegeißelten Bakterien sehr rasch, indem sich einfach die Geißelrotation umkehrt oder bei bipolar begeißelten Bakterien, die Geißeln sich gegenseitig ablösen. Bei peritrich begeißelten Bakterien dagegen geht das Umkehren sehr langsam von statten. Die Bewegung muß erst einen Augenblick aussetzen und die Geißeln die entgegengesetzte Orientierung zum Körper einnehmen.

5) Es wurden ferner Untersuchungen angestellt über die Abhängigkeit der Ausmaße und der Gestalt von Körper und Geißel von dem Alter der Kulturen und der Konzentration des Mediums.

Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde in der Zeit von Mai 1907 bis August 1908 am Hygienischen Institute der Universität ausgeführt.

Es sei mir hier gestattet, Herrn Geh. Med.-Rat Prof. Dr. **Rubner** für die Gewärung der Möglichkeit zur Ausführung der Arbeit, sowie für das rege Interesse, das er der letzteren entgegenbrachte, meinen ergebensten Dank zum Ausdruck zu bringen.

Desgleichen sage ich Herrn Prof. Dr. **Ficker** für seine jederzeitigen freundlichen Unterstützungen und seine Anteilnahme, sowie für den regen Ansporn, den er der Arbeit gab, meinen wärmsten Dank.

Literaturverzeichnis.

1) Ehrenberg, Die Infusionstierchen als vollkommene Organismen. 1838.
2) Cohn, F., Untersuchungen über Bakterien. (Beitr. z. Biolog. d. Pflanzen. Bd. 1. 1872. Heft 2.)
3) — —, Untersuchungen über Bakterien. II. (Ibid. Bd. 1. 1875. Heft 3.)
4) Dallinger, W. H. and Drysdale, J. J., On the existence of flagella in Bacterium termo. (The Monthly microscop. Journ. 1875. Sept. 1.)
5) Warming, Om nogle ved Danmarks Kyster levende Bakterier. Kjöbenhavn 1876.
6) Koch, R., Untersuchungen über Bakterien. VI. Verfahren zur Untersuchung, zum Konservieren und Photographieren der Bakterien. (Cohns Beitr. z. Biolog. d. Pflanzen. Bd. 2. 1877. Heft 3. p. 399—434.)
7) Günther, C., Einführung in das Studium der Bakteriologie. 6. Aufl. 1906. p. 132—133.

8) Migula, W., System der Bakterien. Bd. 1. 1897. p. 97—136.
9a) Reichert, C., Ueber einen neuen Spiegelkondensor zur Sichtbarmachung ultramikroskopischer Teilchen. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 51.)
9b) — —, Ein neuer Spiegelkondensor. (Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 43.)
10) Fischer, A., Ueber die Geißeln einiger Flagellaten. (Pringsheims Jahrb. f. wissensch. Botan. Bd. 26. 1894. p. 187.)
11) — —, Untersuchungen über Bakterien. (Ibid. Bd. 27. 1895. p. 1.)
12) — —, Die Plasmolyse der Bakterien. (Ber. üb. d. Verhandl. d. Kgl. Sächs. Ges. d. Wissensch. zu Leipzig, math.-physik. Klasse. Bd. 43. 1891. p. 52—74.)
13) — —, Vorlesungen über Bakterien. Jena 1903. p. 28.
14) — —, Ueber die Plasmoptyse der Bakterien. (Ber. d. deutsch. Bot. Ges. Bd. 24. 1906. p. 55—63.)
15) Loeffler, F., Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen, insbesondere ihrer Wimperhaare und Geißeln. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 6. 1889. p. 209.)
16) — —, Weitere Untersuchungen über die Beizung und Färbung von Geißeln bei den Bakterien. (Ibid. Bd. 7. 1890. No. 20. p. 625.)
17) Sacharoff, M. N., Cils composés chez une bactérie trouvée dans les selles d'un cholérique. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1893. p. 550.)
18) Bütschli, O., Bemerkungen über Cyanophyceen und Bacteriaceen. (Arch. f. Protistenk. Bd. 1. 1902. p. 76.)
19) Müller, A., Allgemeine Chemie der Kolloide. (G. Bredigs Handb. d. angewandt. physikal. Chemie. Bd. 8. Leipzig 1907. p. 48.)
20) Schulze, H., Schwefelarsen in wässeriger Lösung. (Journ. f. prakt. Chemie. Bd. 25. 1882. p. 431.)
21) Hardy, W. B., Eine vorläufige Untersuchung der Bedingungen, welche die Stabilität von nicht umkehrbaren Hydrosolen bestimmen. (Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. 33. 1900. p. 385.)
22) Bechhold, H., Die Ausflockung von Suspensionen bezw. Kolloiden und die Bakterienagglutination. (Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. 48. 1904. p. 385.)
23) Abegg, R. und Bodländer, G., Die Elektroaffinität, ein neues Prinzip der chemischen Systematik. (Zeitschr. f. anorgan. Chemie. Bd. 20. 1899. p. 453.)
24) Pappenheim, A., Grundriß der Farbchemie. Berlin 1901. p. 178.
25) Linder, S. E. and Picton, H., Solution and pseudo-solution. Part II. (Journ. of Chem. Society. Vol. 67. 1895. p. 63.)
26) Whitney and Ober, Journ. of the Amer. chem. Society. Vol. 23. 1902. p. 842—867.
27) Freundlich, H. und Lose v., G., Ueber die Adsorption der Farbstoffe durch Kohle und Fasern. (Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 59. 1907. p. 284.)
28) Freundlich, H., Ueber Kolloidfällung und Adsorption. (Zeitschr. f. Chem. u. Industr. d. Kolloide. Bd. 1. 1907. p. 321—341.)
29) — —, Ueber die Adsorption in Lösungen. (Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 57. 1906. p. 385.)
30) Künstler, J., Contribution à l'étude des Flagellés. (Bull. de la Soc. zool. de France. T. 7. 1882. p. 21.)
31) van Ermengem, E., Nouvelle méthode de coloration des cils des bactéries. (Trav. d. Laborat. d'Hygiène et de Bactér. de l'Université de Gand. I. 1893. p. 3.)
32) Peppler, A., Ein einfaches Verfahren zur Darstellung der Geißeln. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 29. p. 345.)
33) De Rossi, G., Ueber die Geißelfärbung. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 572.)
34) Smith, L., Publications Cornell University Medic. College. 1901.
35) Gemelli, E., Eine neue Färbemethode der Bakteriengeißeln. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903. p. 316.)
36) Zettnow, A., Ueber Geißelfärbung bei Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 30. 1899. p. 98.)
37) — —, Ueber den Bau der Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 10. 1891. p. 689.)
38) Löwenthal, R., Knecht, E. und Rawson, Ch., Handbuch der Färberei der Spinnfasern. Berlin 1900. p. 5.
39) Lee, A. B. und Mayer, P., Grundzüge der mikroskopischen Technik. Berlin 1907. p. 140—142.
40) Perkin, W. H. jun. und Robinson, R., Brasilin und Hämatoxylin. VIII. (Journ. of the Chem. Soc. Vol. 93—94. p. 489.)
41) Uschinsky, N., Ueber eine eiweißfreie Nährlösung für pathogene Bakterien. (Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 14. 1894. p. 316.)
42) Fraenkel, C., Beiträge zur Kenntnis des Bakterienwachstums auf eiweißfreien Nährlösungen. (Hygien. Rundschau. Bd. 4. 1894. p. 769.)
43) Maassen, A., Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. IX. 1894. p. 401.

44) **Reichert**, K., Beobachtung der Geißeln von Bakterien mit Hilfe des Spiegelkondensors. (Hygien. Rundschau. Bd. 17. 1907. p. 1121.)
45) **van Tieghem**, M. Ph., Sur les prétendus cils des bactéries. (Bull. de la Soc. botan. de France. Vol. 26. 1879. p. 37.)
46) **de Bary**, Vorlesungen über Bakterien und Pilze. 1884. p. 493.
47) **Hueppe**, Formen der Bakterien. Wiesbaden 1886.
48) **Kurth**, Bacterium Zopfii. (Botan. Zeitung. 1883.)
49) **Nägeli**, C., Beiträge zur wissenschaftlichen Botanik. Heft 2. Leipzig 1860. p. 88.
50) **Pfeffer**, W., Pflanzenphysiologie. Bd. 2. Leipzig 1904. p. 696.
51) **Hofmeister**, W., Handbuch der physiolog. Botanik. Bd. 1. 1867. p. 28.
52) **Migula**, W., Beitrag zur Kenntnis des Gonium pectorale. (Botan. Centralbl. Bd. 44. 1890. p. 76.)
53) **Klebs**, G., Ueber die Organisation einiger Flagellaten usw. (Unters. a. d. botan. Instit. Tübingen. Bd. 1. 1883. p. 233.)
54) **Bütschli**, O., Protozoen. (**Bronns** Klassen u. Ordnung. d. Tierreichs. Bd. 1, 2. 1883—1887. p. 851.)
55) **Plenge**, H., Bewegung der Myxomyceten mittels Cilien. (Verh. d. naturw.-med. Ver. Heidelberg. N. F. Bd. 6. 1899. p. 216.)
56) **Jennings**, H. S., On the significance of the spiral swimming of organisms. (The Amer. Naturalist. Vol. 35. 1901. p. 369.)
57) **Délage**, Y. et **Hérouard**, E., Traité de zoologie concrète. T. 1. La cellule et les Protozoaires. Paris 1896. p. 305—312.
58) **Hertwig**, O., Die Zelle und die Gewebe. Jena 1893. p. 64.
59) **Hensen**, Handbuch der Physiologie. Bd. 6. 1881.
60a) **Engelmann**, Th. W., Bewegung der Oscillarien und Diatomeen. (**Pflügers** Archiv. Bd. 19.)
60b) — —, Ueber die Flimmerbewegung. (Jenaische Zeitschr. f. Med. u. Naturw. Bd. 4. 1868. p. 471.)

Nachdruck verboten.

Ueber eine besonders für Schnittfärbungen brauchbare Modifikation der Gramschen Färbungsmethode.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald.]

Von **Siegfried Stephan.**

Auf Veranlassung von Herrn Geh.-Rat Loeffler wurde die nachfolgende Reihe von Färbungsversuchen grampositiver Mikroorganismen von mir in Angriff genommen, zu denen eine aus dem hiesigen Physiologischen Institut erschienene Arbeit über den „mikrochemischen Nachweis des Glykogens“ von Dr. Kan Kato[1]) die Anregung gegeben hatte. Kato hatte bemerkt, daß in gewissen Geweben (Eierstock des Frosches) die gewöhnliche Jodreaktion auf Glykogen nicht ausreichte, um in mikroskopischen Schnitten den Glykogengehalt des betreffenden Organes nachzuweisen. Von der Voraussetzung ausgehend, daß das Jod in statu nascendi eine viel intensivere Wirkung auf das glykogenhaltige Gewebe ausüben werde, behandelte er seine Gefrierschnitte nacheinander mit einer Ferricyankalium- und einer Jodkaliumlösung, und erhielt mit Hilfe des aus dem Jodkali frei werdenden Jods durchweg gute Resultate: Das Glykogen wurde in kleinen zackigen Punkten und Streifen selbst in den feinsten Strukturelementen der Gewebsschnitte durch eine intensive Braunrotfärbung sichtbar. Gerade dieser Umstand, daß die Jodwirkung sich auch auf minimale Spuren von Glykogen in den feinsten Gewebselementen erstreckte, legte den Gedanken nahe, diese empfindliche Jodreaktion zur Gram-Färbung von Mikroorganismen in Schnittpräparaten heranzuziehen, wobei zu erwarten war, daß das Jod in seinem Status

---

1) Kan Kato, Beitrag zur Frage des mikrochemischen Nachweises des Glykogens. (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. CXXVII.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nascendi eine besonders kräftige Verbindung mit den zuvor mit einem der Pararosaniline tingierten Bakterienleibern ergeben werde.

Um die Brauchbarkeit dieser Modifikation der Gramschen Färbung jedoch überhaupt zu prüfen, wurden zunächst Ausstriche von grampositiven Mikroorganismen herangezogen und in folgender Weisebehandelt:

Zunächst wurden die Ausstriche in der üblichen Weise mit einer Methylviolett VI B-Karbolwasserlösung[1]) gefärbt, darauf wurden — nach erfolgtem Abspülen — einige Tropfen einer Ferricyankaliumlösung auf das Deckglas gebracht, danach die gleiche Menge einer Jodkaliumlösung aufgetropft, und das Präparat der Einwirkung dieses Gemisches unter leichtem Hin- und Herbewegen 2—5 Minuten lang ausgesetzt. Nach erneutem kräftigen Abspülen wurden die Präparate in absolutem Alkohol maximal entfärbt, woran noch gelegentlich eine Gegenfärbung mit verdünntem Karbolfuchsin oder Eosin angeschlossen wurde.

Die Ferricyankalium-Jodkaliumbehandlung erstreckte sich auf drei parallel durchgeführte Versuchsreihen: in der ersten Reihe wurde eine 5-proz., in der zweiten eine 10-proz., in der dritten eine 15-proz. Ferricyankaliumlösung mit je der gleichen Menge einer 5-proz. Jodkaliumlösung auf dem Präparat in Verbindung gebracht mit dem Resultate, daß sich durchweg eine gute Gram-Färbung der positiven Mikroorganismen ergab. Das Gleiche fand sich auch, wenn man das Ferricyankalium und Jodkalium nicht erst auf dem Präparate vereinigte, sondern das Deckglas in einem frisch hergestellten Gemisch von beiden Lösungen āā (in den genannten Konzentrationen) hin- und herbewegte. Als Material für diese Versuchsreihen wurden verwandt: Staphylokokken, Streptokokken, Pneumokokken, Milzbrand- und Diphtheriebacillen.

Als sich nach diesem Ergebnis die Ferricyankali-Jodkalibehandlung im Prinzip als brauchbar für die Gram-Färbung erwiesen hatte, wurde zu dem eigentlichen Zweck der Versuche, den Schnittfärbungen, übergegangen. Hierbei wurde in einer neuen Gruppe von Versuchsreihen so verfahren, daß nach gründlicher Durchfärbung der Schnitte in Methylviolett VI B und Abspülen des überschüssigen Farbstoffs in Wasser die Präparate in ein frisch zusammengegossenes Gemisch von Ferricyankali- und Jodkalilösung āā gebracht und nach kräftiger Schwarzbraunfärbung kurz abgespült und in Alkohol gründlich entfärbt wurden. Hierauf folgte entweder noch eine rote Kontrastfärbung oder sofortiges Einlegen in Xylol und Einschluß in Kanadabalsam. Auch hier wurden die Versuche in drei Reihen mit 5-, 10- und 15-proz. Ferricyankaliumlösung vorgenommen, wobei sich zwar eine gute Gram-Färbung ergab, andererseits jedoch eine Anhäufung von feinen Ferricyankalium-Kristallnadeln sich in den Schnitten störend bemerkbar machte. Da hier offenbar Ferricyankali im Ueberschuß vorhanden war, wurde das Gemisch von Ferricyankali und Jodkali nicht, wie bisher, zu gleichen Teilen, sondern im Verhältnis von 1:2 bei den weiteren Versuchen in Anwendung gebracht und in einer dritten Gruppe von Versuchsreihen durchgeprüft; auch hier wurden die gleichen Konzentrationen der Lösungen beibehalten. Bei dieser Behandlung der Präparate fanden sich keinerlei Kristallniederschläge mehr, während die Gram-Färbung überall eine gleichmäßig kräftige und saubere war. Letzteres galt nicht nur für die größeren der verwendeten Mikroorganismen, wie Milzbrand, Staphylokokken, Pneumokokken, sondern in besonders prägnanter Weise auch für die kleineren

---

1) Loeffler, F., Zur Gramschen Färbungsmethode. (Deutsche mediz. Wochenschrift. 1906. No. 31.)

Stäbchen, z. B. der Mäuseseptikämie, des Schweinerotlaufes, für Tuberkel- und Leprabacillen. Die tief blau-schwarz tingierten Bakterien heben sich in klarer und scharfer Zeichnung gut vom entfärbten Hintergrunde ab und lassen auch dort, wo sie in dichten Haufen und Nestern zusammenliegen, die Einzelindividuen stets deutlich und ohne Farbstoffniederschläge in ihrer Umgebung erkennen. Ueberhaupt zeichnen sich die Schnitte — im Gegensatz zu den nach der üblichen Jodjodkalimethode hergestellten Kontrollpräparaten — durch den Mangel an Farbstoffverunreinigungen aus, durch die bisher namentlich die ersten Uebersichtsbetrachtungen bei schwacher Vergrößerung zur Aufsuchung der bakterienhaltigen Stellen so oft gestört wurden.

Der Prozentgehalt der Ferricyankalilösungen erwies sich bei den Versuchen als ziemlich irrelevant; Kato benutzte zu seiner Glykogenreaktion eine Lösung von „gelb-grünlicher Farbe“, was einem Gehalt von etwa 15—20 Proz. entspricht, während zu unserer Gram-Färbung schon eine 5-proz. Ferricyankalilösung genügte. Durchaus zuverlässige Resultate wurden stets mit dem Mittelwert einer 10-proz. Lösung erreicht.

Zu bemerken ist noch, daß die Schnitte, sobald sie mit dem Ferricyankali in Berührung gekommen sind, nicht mit Metallinstrumenten behandelt werden dürfen, da sich sonst sofort unangenehme Niederschläge von Turnbulls Blau bilden; bei unseren Versuchen erfolgten die Manipulationen der Schnitte stets mit Glasnadeln.

Durchgeprüft wurde nach der zuletzt angegebenen Versuchsanordnung folgendes Material in Organschnitten:

Streptokokkenseptikämie, Staphylokokken (in metastatischen Abscessen), Pneumokokken, Mäuseseptikämie, Schweinerotlauf, Milzbrand, ein grampositiver Stamm von Rauschbrand, Tuberkulose, Lepra, Aktinomykose, Oïdium und ein tierpathogener Hefenstamm.

Das Endergebnis der vorstehenden Färbungsversuche läßt sich in folgende Vorschrift kurz zusammenfassen:

1. Färben der alkoholfixierten Schnitte in Methylviolett VI B-Karbolwasserlösung[1]) 10 Minuten (die säurefesten Stäbchen sowie die Aktinomyces-Arten und Oïdien 1 Stunde, Tuberkulose eventuell noch länger).
2. Abspülen in Wasser.
3. Einbringen der Schnitte in ein frisch zusammengegossenes Gemisch von 10-proz. Ferricyankali- und 5-proz. Jodkali-Lösung im Verhältnis von 1:2 für 10 Minuten.
4. Abspülen in Wasser.
5. Maximale Entfärbung in Alkohol absol. (Dauer je nach Dicke der Schnitte).
6. Einlegen in Xylol, Einschließen in Kanadabalsam. (Eventuell vorherige Gegenfärbung mit verdünntem Karbolfuchsin oder Eosin.)

Von 3) ab: Behandlung der Schnitte mit Glasnadeln.

---

[1]) 10 ccm einer konz. alkohol. Methylviolett VI B-Lösung auf 90 ccm 2-proz. Karbolwasser.

Inhalt.

Mc Intosh, James, On the presence of the Spirochaete pallida (Treponema pallidum) in the ova of a congenital syphilitic child, p. 11.
Mereshkowsky, S. S., Untersuchung einer 8-jährig. Bouillonkultur des Zieseltyphusbacillus (B. typhi spermophilorum), p. 1.
— — **u. Sarin, E.,** Ueber das Ratin II, p. 6.
Reichert, Karl, Ueber die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien, p. 14.
Stephan, Siegfried, Ueber eine besonders für Schnittfärbungen brauchbare Modifikation der Gramschen Färbungsmethode, p. 94.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 51. Heft 2.

Nachdruck verboten.

Die Bestimmung und meteorologische Verwertung der Keimzahl in den höheren Luftschichten.

Nach vom Luftballon aus angestellten Beobachtungen.

Von Prof. **Martin Hahn**, München.

Mit 4 Kurven.

Der Keimgehalt der Luft ist namentlich im Anfange der bakteriologischen Aera Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen. Das leitende Interesse war hierbei größtenteils ein hygienisches oder zum mindesten ein rein biologisches. Meist fahndete man auf Krankheitskeime in der Luft oder man suchte den Grad und die Gründe der Luftverunreinigung auf diese Weise festzustellen. Meteorologische Gesichtspunkte sind wenig maßgebend gewesen, und doch war es eigentlich naheliegend, den Keimen als Teilen irdischen Ursprungs auf ihren Wegen in die höheren Luftschichten zu folgen und sie auf ihren Wert als Indikatoren meteorologischer Erscheinungen zu prüfen. Seitdem die Luftschiffahrt eine größere Ausdehnung und Organisation zu wissenschaftlichen Zwecken gefunden hat und es damit ermöglicht ist, die Keime der höheren Luftschichten in ziemlich einwandfreier Weise, d. h. ohne die direkte Beeinflussung durch den Erdboden zu sammeln, sind erst zwei Arbeiten erschienen, welche die Resultate bakteriologischer Luftuntersuchungen vom Ballon aus gebracht haben. Die erste Mitteilung von Harz erschien als Anhang des Jahresberichtes des Münchener Luftschiffervereins 1903; ihr folgte eine zweite im Jahresbericht 1904, in welcher Harz bereits die Ergebnisse von 4 Fahrten mit 30 Keimzahlbestimmungen veröffentlichen konnte. 1907 berichtete Flemming[1] über seine Untersuchungen, bei denen er 65 Luftproben auf 10 Freifahrten und 6 Auffahrten im Fesselballon gesammelt hatte. Während Harz auf Anregung von Bassus, Emden und Finsterwalder schon den meteorologischen Zusammenhängen mehr sein Interesse zugewandt hatte, als der Bestimmung der einzelnen Keimarten, obgleich er selbst Botaniker war, hat Flemming gerade diesen letzteren Punkt mit größerer Aufmerksamkeit verfolgt und dabei ein sehr reiches Material zusammengetragen, wenngleich dasselbe einstweilen noch nicht zu sehr bedeutsamen Schlüssen Veranlassung gibt. Flemming, der die Harzschen Arbeiten nur wenig würdigt und dessen Befunde als lediglich quantitative bezeichnet, kommt in meteorologischer Beziehung zu dem Schluß, daß der Gehalt der höheren Luftschichten an lebensfähigen Keimen auffallend groß an der unteren Wolkengrenze sei, daß er ferner auf weite Entfernungen von dem reichlichen Keimgehalt der Großstädte, vor allem aber durch die abtötende Wirkung der Sonnenstrahlen beeinflußt werde. Die bereits von Harz und Emden gezogenen Schlüsse bezüglich der Wirkung aufsteigender Luftströme wurden von Flemming kaum, die von den beiden Genannten erwähnte Möglichkeit verschiedene Luftmassen nicht nur durch die potentielle Temperatur und absolute Feuchtigkeit, sondern auch die Keimzahl zu charakterisieren, gar nicht berücksichtigt. Feuchtigkeits- und Temperaturmessungen wurden auf Flem-

---

[1] Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LVIII. p. 345.

Flemmings Fahrten anscheinend nicht angestellt. Und doch erschienen die **Harz**schen Befunde den meteorologischen Sachverständigen des Münchener Vereins nach dieser Richtung hin so wertvoll, daß der Vorstand der wissenschaftlichen Abteilung, Prof. **Finsterwalder**, mich, nachdem Prof. **Harz** uns leider zu früh durch den Tod dahingerafft wurde, im Februar 1907 aufforderte, die **Harz**schen Untersuchungen fortzusetzen. Als Hauptergebnisse seiner Untersuchungen bezeichnet **Harz** die folgenden Punkte:

1) Eine Beeinflussung der bakteriologischen Untersuchungen **durch den Ballonkörper** erscheint bei unserer Methode im allgemeinen **unwahrscheinlich**; **ausgeschlossen** dürfte dieselbe sein, wenn der Bakterienfang bei **fallendem Ballon** vorgenommen wird.

2) Die bisherige Ansicht, **daß die höheren Schichten der freien Atmosphäre stets reiner und keimfreier als die unteren seien**, kann nicht mehr aufrecht erhalten werden.

3) Die Bakterien sind in der Luft **wolkenartig** verbreitet; der atmosphärische Staub dürfte ähnliches Verhalten zeigen.

Da die frühere Literatur über die bakteriologischen Luftuntersuchungen in den kürzlich erschienenen Arbeiten von **Harz**, **Flemming** und **Saito**[1]) zusammengestellt und besprochen ist, und insofern für die vorliegenden Untersuchungen, wie erwähnt, ziemlich belanglos ist, als die Versuche keine meteorologischen Gesichtspunkte im wesentlichen verfolgen und unter dem direkten Einflusse des Erdbodens stehen, wende ich mich direkt zunächst der von mir bei meinen Untersuchungen befolgten Methodik zu.

Die bisher zur Feststellung der Keimzahl in der Luft geübte Methodik scheint mir nicht nach allen Richtungen hin einwandfrei zu sein. Sie mußte namentlich für die Zwecke der Luftschiffahrt einige Abänderungen erfahren, die aber von ganz prinzipieller Bedeutung sind. Nur mit Hilfe einer möglichst einwandfreien und verfeinerten Methodik kann man hoffen, auch geringere Differenzen im Keimgehalt festzustellen und so die Bakteriologie auch für meteorologische Zwecke dienstbar zu machen. In erster Linie kam in Betracht die Wahl des Filters und die in Untersuchung zu ziehende Luftmenge. Beide Faktoren sind voneinander abhängig. Die **Hesse**sche Röhre gestattet nur eine sehr langsame Luftentnahme, ist für die Zwecke der Ballonuntersuchungen unhandlich und würde mit ihrer Gelatineauskleidung der Sonnenstrahlung nicht widerstehen. Das **Miquel**sche Filter, ob mit Natriumsulfat oder Zucker gefüllt, hat sich auch in der **Harz**schen Modifikation für den vorliegenden Zweck nicht als praktisch erwiesen. Ohne Zweifel ist es, wenn man, wie **Miquel** es getan hat, sehr langdauernde Untersuchungen durchführt und die Gesamtquantität der gelösten Substanz des Filters in Untersuchung zieht, d. h. in Platten verarbeitet, sehr brauchbar. Aber schon die erste Fahrt, bei welcher ich genau der Arbeitsmethode von **Harz** folgte, zeigte mir, daß man argen Fehlerquellen ausgesetzt ist, wenn man die Luft zu schnell aspiriert oder aber Proben aus einer stark mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre entnimmt, wobei die Substanz des Filters zusammenbackt oder schließlich, wenn man die Lösung der Substanz nur teilweise auf Platten verarbeitet. Wenn die Filter nicht vollkommen vertikal gestellt sind, entstehen größere Luftkanäle, und wenn die Substanz stark Feuchtigkeit anzieht, wird gleichfalls die Gleichmäßigkeit der Filterporen verändert. Nicht immer zu

---

[1]) Journal of the College of Science, Japan. Tokyo 1903/04.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

vermeidende Verunreinigungen beim Lösen und Plattengießen beeinflussen das rechnerische Resultat der Untersuchung um das Vielfache, wenn man nur einen Teil der Lösung auf Platten verarbeitet. Eine neuerdings von Ficker[1]) angegebene Methode, die Luft in evakuierten und mit Gelatine gefüllten Röhren zu sammeln, die nach der alten Esmarchschen Methode ausgerollt werden, ist wegen der kleinen Luftmengen, die in dieser Weise nur untersucht werden können, für die vorliegenden Zwecke gleichfalls nicht benützbar. Am brauchbarsten sind entschieden für die Zwecke der Ballonuntersuchungen die Fickerschen Filter, die schon von Flemming hierfür benutzt worden sind. Indessen ist auch hier ein Umstand zu berücksichtigen, welcher das zahlenmäßige Resultat der Untersuchung fälschen kann. Die Fickerschen Filter werden bekanntlich mit Glasstücken von bestimmter Korngröße, die aus zertrümmerten Glasperlen hergestellt werden, gefüllt. Wiederholt wurde von mir beobachtet, daß beim Digerieren mit wenig Wasser während einiger Tage derartige feine Glaskörner ziemlich beträchtliche Quantitäten von Alkali an die Flüssigkeit abgaben. Es ist ohne weiteres klar, daß in so feinen Splittern einfach durch die Vergrößerung der Oberfläche die Alkaliabgabe auch bei relativ guten Glassorten eine ziemlich beträchtliche sein kann. Da nun aber in den höheren Luftregionen die Schimmelpilze prävalieren, so ist, wenn die in die Gelatineplatten ausgesäten Glassplitter Alkali abgeben, eine Entwickelungshemmung der Keime sehr zu befürchten. Auf Rat des Herrn Dr. Steinmetz, München, habe ich nach ziemlich ausgedehnten Versuchen mit anderem Material z. B. sehr feinen, im Handel erhältlichen Glasperlen, Körner von geschmolzenem Bergkristall benutzt, die von Heräus in Wetzlar zu beziehen sind. Die Verteilung der Filterkörner erfolgte nicht, wie gewöhnlich, in mehrere Petri-Schalen von 10 cm Durchmesser, sondern nach Hauptschicht und Kontrollschicht gesondert in zwei Petri-Schalen von je 17 cm Durchmesser, die einen möglichst ebenen Boden besitzen müssen. Versuche zeigten hier, wie von vornherein anzunehmen war, daß, je mehr Petri-Schalen verwandt werden, um so größer die Zahl der beim Plattengießen auftretenden Verunreinigungen ist und um so falscher natürlich auch das schließlich berechnete Resultat. Wo größere Keimzahlen zu erwarten waren, wie bei den Untersuchungen im Sommer, wurden für die Hauptschicht 2 Platten verwendet.

Die gleiche Fehlerquelle ergibt sich, wenn man zu kleine Luftmengen abfiltriert, und dieser Punkt ist einer der wichtigsten bei der ganzen Untersuchung. Ist die Luftmenge zu klein, so treten die unvermeidlichen Fehlerquellen rechnerisch viel stärker in Erscheinung. Neben den schon erwähnten Verunreinigungen im Laboratorium kommen solche in Betracht, die von Staubteilchen des Ballons und seiner Adnexe, sowie des Ballastsandes herrühren. Wie diese letzteren nach Möglichkeit zu vermeiden sind, soll weiter unten erörtert werden. Hier sei nur darauf hingewiesen, welche zahlenmäßige Bedeutung sie bei Benutzung zu kleiner Luftmengen erlangen können. Auf der anderen Seite aber ist auch die Aspiration zu großer Luftmengen nicht wünschenswert. Für meteorologische Zwecke sollten die Proben möglichst aus einer gleichartig zusammengesetzten Luftschicht entnommen werden; es ist also wünschenswert, aber beim Freiballon natürlich durchaus nicht immer oder nur durch luftverunreinigende Ballastausgaben erreichbar, die

---

[1]) Zeitschr. f. Hygiene. 1909.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Probe aus einer gewissen Höhenschicht zu entnehmen. Je größer die aspirierte Luftmenge ist, um so länger wird die Probeentnahme dauern müssen, weil bei zu rascher Probeentnahme, wie die Fickerschen und auch meine eigenen Versuche bewiesen haben, schließlich jedes Filter keimdurchlässig wird, und um so stärker wird auch meistens die Höhenkurve während der Versuchszeit schwanken. Eingehende Versuche im Laboratorium und die Erfahrungen bei der Luftschiffahrt haben mir gezeigt, daß im allgemeinen die Aspiration von 50 Litern in 10—15 Minuten im Sommer, von 100 Litern in 20—30 Minuten im Winter bei den Fickerschen Filtern die sichersten Resultate ergibt, und daß eine Verlängerung der Aspirationsdauer und damit Vergrößerung des Luftquantums nur bei sehr stabiler Lage des Ballons rätlich erscheint (z. B. Nachtfahrt). Bei 50 Litern in 15 Minuten findet man in der Kontrollschicht selten mehr als 1—2 Keime. Diese Feststellungen wurden so gemacht, daß zwei Apparate, die mit Filtern armiert waren, gleichzeitig, aber mit verschiedener Schnelligkeit in der Peripherie des Ballons arbeiteten.

Durch die eben aufgestellten Anforderungen, die man bezüglich der in der Zeiteinheit zu aspirierenden Luftmenge zu stellen genötigt ist, wird nun aber auch die Wahl des Aspirators beeinflußt. Wenn man den oben erwähnten Ansprüchen genügen will, so können meines Erachtens die gewöhnlichen Aspirationsmethoden für die Ballonfahrten nicht in Betracht kommen. Große Wasseraspiratoren, wie sie von Harz zuletzt, von mir bei der ersten Fahrt, deren Resultate hier nicht verwertet sind, benutzt wurden, erwiesen sich als höchst unpraktisch und unhandlich im Ballon und ermöglichen auch kaum die Entnahme großer Mengen in kurzer Zeit. Mit der Hand oder dem Fuß getriebene Gummi- oder Metallpumpen, die von Harz bei seinen ersten Fahrten, von Flemming stets gebraucht wurden, erfordern ein unaufhörliches und ziemlich anstrengendes Arbeiten und ermöglichen dabei doch nur die Entnahme relativ kleiner Luftmengen in der Zeiteinheit. Zugleich haben alle diese Aspiratoren den gemeinsamen Nachteil, daß sie in der Gondel betrieben werden müssen und durch einen langen Schlauch mit dem Filter verbunden sind. Harz ist so vorgegangen, daß er die Filter am Ende eines 12 m langen, am Rande des Korbes befestigten Gummischlauches nach abwärts hängen ließ. Dabei war die Filterröhre so befestigt und so umgebogen, daß sie aufrecht stand, aber die Luft von unten her einströmte. Wenn Harz auch durch besondere Versuche, bei welchen er Korb und Netzwerk vor der Abfahrt mit Bacillus prodigiosus-Kultur absichtlich verunreinigte, festgestellt zu haben glaubte, daß eine Beeinflussung der Untersuchungen durch den Ballonkörper im allgemeinen unwahrscheinlich ist, so muß doch die Luftentnahme in der Vertikalen, nach unten zu wegen des Ballastsandes im allgemeinen als bedenklich bezeichnet werden. Die Versuche mit Bac. prodigiosus wurden auch von mir bei der ersten Fahrt und unter Benutzung der Harzschen Methodik wiederholt, und führten zu einem negativen Ergebnis insofern, als der an dem Ballonkörper haftende Prodigiosus in den Filtern nicht enthalten war. Indessen fand ich 1) einen fluoreszierenden Wasserbacillus, der sehr häufig in dem Münchener Leitungswasser enthalten ist und daher sehr wohl aus dem zur Verdünnung der Prodigiosus-Kultur benutzten Leitungswasser stammen konnte, auf einem der Filter wieder, und 2) erscheint mir der Versuch insofern nicht beweiskräftig, als ich, nachdem der Ballon während der Fahrt mehrere Stunden den Sonnenstrahlen der höheren

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Atmosphäreschichten ausgesetzt gewesen war, am Korb durch Probeentnahme nach der Landung den Prodigiosus auch nicht mehr nachweisen konnte. Es ist also anzunehmen, daß die Keime, trotzdem die Aussaat eine sehr reichliche gewesen war, zum großen Teil während der Fahrt zugrunde gegangen sind. Flemming hat meines Erachtens die Luftentnahmestelle sehr viel günstiger gewählt, indem er das Filter an einer vom Netzwerk kommenden vertikalen Leine in der Peripherie des Ballons horizontal aufhing und durch einen langen Gummischlauch mit der zur Aspiration dienenden Pferdemagenpumpe verband. Auf diese Weise läßt sich bei kleineren Ballons in der Tat wenigstens die Verunreinigung durch Keime, die vom Korb und dem Inhalte des Korbes stammen, vermeiden. Bei größeren Ballons wird der Gummischlauch, welcher dem Radius des Ballons entsprechen muß, so lang und infolgedessen so schwer, daß er einen sogenannten Durchhang bekommt, wodurch das Filter unter den Ballon eingezogen wird und die Luftentnahme nicht mehr an der Peripherie des Ballons erfolgt. Mein Bestreben ging dahin, die Filter womöglich noch außerhalb der Peripherie des Ballons zu exponieren und gleichzeitig die Aspiration so einfach wie möglich zu gestalten, vor allem das höchst lästige Pumpen mit der Hand auszuschalten, das andere Beobachtungen hindert. Es traf sich glücklich, daß die ersten Fahrten unter der Führung des Freiherrn v. Bassus und unter Beteiligung des Ingenieurs Herrn W. Sedlbauer erfolgten, die bei dieser Gelegenheit zum ersten Male den sogenannten Heergesell-Apparat, welcher Feuchtigkeit, Temperatur und Höhe gleichzeitig registriert, mittelst Akkumulatoren vom Korb aus elektrisch ventilierten.

Dieses Verfahren legte den Gedanken nahe, auch für die Aspiration einen Apparat zu verwenden, welcher in der Peripherie mit dem Filter aufgehängt werden kann und durch einen Elektromotor in Bewegung gesetzt werden kann, der den Strom aus in der Gondel befindlichen Akkumulatoren empfängt. Nach vielen, gemeinsam angestellten Vorversuchen, gelang es Herrn Sedlbauer, einen Aspirator zu konstruieren, der den von mir aufgestellten Anforderungen genügt und sich, wie meine Publikationen im „Gesundheitsingenieur 1907 und 1908" beweisen, nicht nur für bakteriologische Luftuntersuchungen, sondern auch für die Bestimmung des Staub- und Rußgehaltes, sowie gasförmiger Verunreinigungen der Luft eignet. Der Apparat besteht im wesentlichen aus einer zweizylindrigen Pumpe mit Zählwerk, die durch einen Elektromotor (4 Volt, 0,6 Amp.) mittelst Akkumulator betrieben wird. In die Antriebsschnecke des Motors greift mittelst Schneckenrades ein Zählwerk ein, das die Zahl der Umdrehungen des Motors angibt. Das Ganze ist in einem zylindrischen Gehäuse untergebracht, das etwa 20 cm hoch und 17 cm breit ist und wiegt ohne Akkumulator $3^1/_2$ kg. Die Akkumulatoren in einem Holzkasten haben auch etwa $3^1/_2$ kg Gewicht.

Das Zählwerk wird unter Zwischenschaltung eines Filters mit der Gasuhr geeicht. Der Eichungswert bleibt natürlich nur so lange maßgebend, als keine zu großen Widerstände vorgeschaltet werden.

Um die Entnahme der Luftproben ganz sicher außerhalb der Peripherie des Ballons zu ermöglichen, wurde an die Einsaugeöffnung des Apparates noch ein 1 m langes Messingrohr angeschraubt, an welches direkt mittels Gummischlauches das Filter angesetzt wird. Die Verwendung des Apparates zur Probeentnahme gestaltet sich nunmehr äußerst einfach. Möglichst schon vor der Abfahrt wird die Luftpumpe an einer, oben am Netzwerk befestigten Leine in der Peripherie des

Ballons und Höhe des Korbrandes durchgeschlungen, das andere Ende der Leine im Tauwerk des Korbes befestigt und außerdem die Kabel mit den Kontakten einerseits in den nunmehr an der Peripherie hängenden Apparat, andererseits in die im Korbe befindlichen Akkumulatoren eingefügt. Die hier gebrauchten Akkumulatoren, auf die uns der Führer späterer Fahrten, Herr Oberpostassessor Bletschacher, zuerst hingewiesen hat, sind so sicher konstruiert, daß sie selbst die Fährlichkeiten stürmischer Landungen stets sicher ohne Schaden überstanden haben. Namentlich ist kein Auslaufen der Flüssigkeit zu befürchten (Type Kg der Vartagesellschaft). Zur gewünschten Zeit wird der Apparat in den Korb gezogen, mit dem Filter armiert, nachdem das Zählwerk abgelesen, wieder herausgelassen und die Zeit notiert, nunmehr der Strom eingeschaltet. Durch Vorversuche im Laboratorium kann man leicht feststellen, wielange Zeit die Entnahme von ca. 50 l bei Einschaltung einer gewissen Akkumulatorenzahl beansprucht. Nach Ablauf dieser Zeit wird das Zählwerk wieder abgelesen, die Zeit notiert und das Filter ausgewechselt, was in der Regel nicht mehr als ein bis zwei Minuten in Anspruch nimmt. Auf diese Weise ist es möglich, eine vollständige Bakterienkurve zu gewinnen, d. h. fortlaufende Untersuchungen anzustellen, welche Durchschnittswerte für die durchlaufenen Luftschichten ergeben, ein Resultat, was über Erwarten günstig ist, mit den bisherigen Methoden nicht erreicht werden konnte und eigentlich erst die meteorologische Verwertung der gewonnenen Ergebnisse ermöglicht. Für die Sicherheit der Resultate und die möglichste Ausschaltung aller Fehlerquellen scheint mir vor allen Dingen das Ergebnis einer Fahrt vom 4. März 1908 zu sprechen, bei welcher unter Benutzung zweier gleichzeitig, aber mit verschiedener Geschwindigkeit laufender Apparate in einer Höhe von 1400—1700 m bei 4 Bestimmungen hinter- und nebeneinander in 289 l Luft kein einziger Keim gefunden wurde. Auch bei Benutzung der elektrisch betriebenen Pumpe erfordern aber bakteriologische Luftuntersuchungen die volle Aufmerksamkeit des Beobachters, der zudem mitunter auch noch meteorologische Apparate zu versorgen hat, wie dies bei meinen letzten Fahrten der Fall war, und es erscheint mir bei solchen Versuchen ausgeschlossen, daß er zugleich auch noch die Führung des Ballons leitet oder sich bei Ballastausgaben die Hände und Kleider bestaubt. Selbstverständlich ist es, daß im Laboratorium sämtliche Kontrollen angestellt werden müssen, die das Resultat sichern können. Es ist also nötig, daß man zunächst mehrere Filter, welche die Fahrt mitgemacht haben, aber nicht benutzt wurden, auf ihre Sterilität prüft. Ferner muß man eine oder mehrere Petri-Schalen, mit der zu benutzenden Gelatine beschickt, am Orte des Plattengießens frei aufstellen, um einerseits die in der Laboratoriumsluft befindlichen Keime zu sammeln, andererseits die Brauchbarkeit der Gelatine für die Entwickelung der Luftkeime nachzuweisen. Alle Keime, die man auf den Kontrollplatten gefunden hat und die man in den Ballonluftproben wiederfindet, als Verunreinigungen zu betrachten, erscheint mir nicht statthaft. Der Aspergillus glaucus z. B. und das Penicillium glaucum sind wohl in jeder Laboratoriumsluft zu finden, aber auch noch in den höchsten Schichten nachzuweisen. Ebenso verhält es sich mit verschiedenen Sarcine-Arten. Dagegen sind mit großem Mißtrauen immer aufzunehmen Stäbchenkolonieen, und es gelingt häufiger, sie auf der Kontrollplatte wiederzufinden. Das Gießen der Platten erfolgt in peinlich sauber gereinigtem und nur für diese Zwecke benutztem Abzug. Die Filterröhren müssen vor dem Ausschütten des Inhalts feucht außen abgewischt werden. Was die Zählung anbelangt, so haben eingehende Versuche ergeben, daß es zweckmäßig ist, sie nicht vor dem 6. Tage etwa vorzunehmen und andererseits die Platten vor der Zählung möglichst wenig zu berühren und zu erschüttern. Haben sich bereits Fruchtträger an den Schimmelpilzkolonieen ausgebildet, so kann sonst leicht eine Verbreitung der Schimmelsporen auf der ganzen Platte eintreten und damit eine viel größere Zahl von Keimen vorgetäuscht werden. Rasch verflüssigende Kolonieen, die eine frühere Untersuchung der Platte notwendig machen würden, sind in den höheren Luftschichten überhaupt selten. Bei der Art der Luftentnahme, wie sie hier noch außerhalb der Ballonperipherie geübt wurde, ist eine Verunreinigung durch Ballastsand kaum zu befürchten. Es mußte öfters während der Probenentnahme Ballastsand ausgegeben werden und trotzdem habe ich in einigen derartigen Proben keinen einzigen Keim gefunden. Immerhin ist es zweckmäßig, soweit als möglich Wasserballast, der im Winter wegen der Gefahr des Einfrierens mit Alkohol oder Glyzerin versetzt werden muß, an Stelle des Sandballasts während der Probeentnahme zu benutzen, und falls eine Sandballastausgabe während der Exponierung des Filters stattgefunden hat, dies zu notieren.

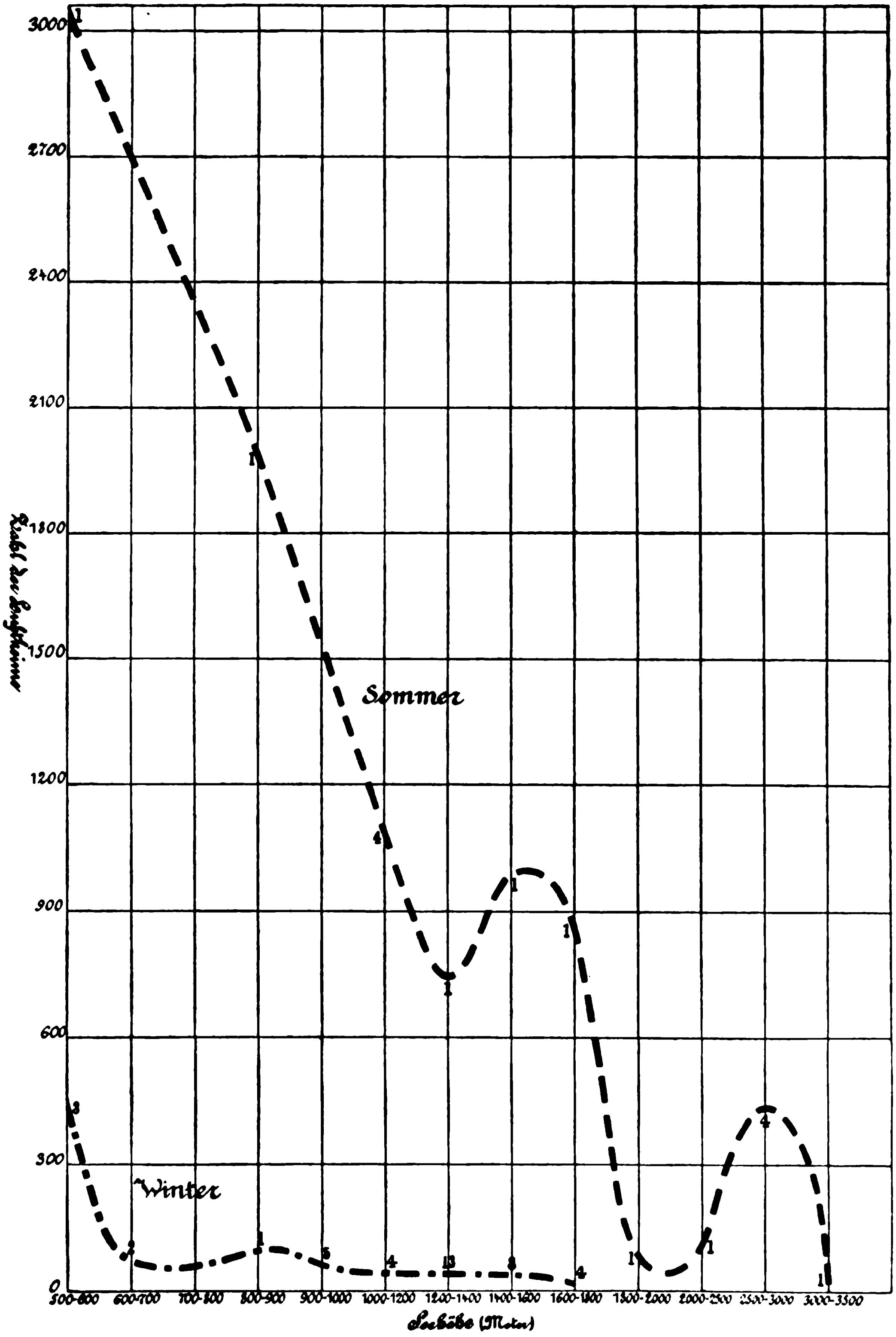
Die Erfahrungen, die bei den später zu beschreibenden Fahrten gewonnen wurden, haben gezeigt, daß meteorologisch verwertbare Resultate durch die bakteriologischen Untersuchungen eigentlich nur gewonnen werden können, wenn gleichzeitig die wichtigsten übrigen meteorologischen Faktoren, also Höhe, Feuchtigkeit und Temperatur, fortlaufend registriert werden. Bei den unvermeidlichen Höheschwankungen des Ballons lassen sich aus periodischen Aufzeichnungen, wie sie mit Hilfe des Barometers und Aspirationspsychrometers (Assmann) etwa in der Mitte der Beobachtungszeit für die bakteriologische Untersuchung festgestellt werden können, keine ganz sicheren Anhaltspunkte gewinnen. Sie bilden nur einen schwachen Ersatz für die sicheren und fortlaufenden Angaben, die das von Hergesell angegebene Instrument liefert, welches die drei Kurven der Feuchtigkeit, Temperatur und Höhe gleichzeitig übereinander auf einer berußten Trommel verzeichnet. Wenn ich mich bei meinen letzten Winterfahren trotzdem mit solchen periodischen Aufzeichnungen aus äußeren Gründen begnügt habe, so geschah es in der bereits gewonnenen Erkenntnis, daß der Keimgehalt der höheren Luftschichten im Winter überhaupt ein so geringer ist, daß feinere Differenzen der meteorologischen Faktoren in den Keimzahlen nicht mehr zum Ausdruck kommen können. Es sollte auf diesen Fahrten nur der geringe Keimgehalt der Winterluft endgültig bei Tag und Nacht und unter verschiedenen meteorologischen Verhältnissen festgelegt werden. Bei so geringem Keimgehalt fallen, wie für jeden bakteriologisch Geübten ohne weiteres klar ist, die beim vorsichtigsten Plattengießen immer möglichen Verunreinigungen schon zu schwer ins Gewicht. Rechnet man mit der Möglichkeit, die unter den hier gewählten Versuchsbedingungen den tatsächlichen Verhältnissen ungefähr entspricht, daß auf jeder mit einem Filterinhalt beschickten Gelatineplatte sich 1—2 verunreinigende Keime entwickeln können, so ergibt dies bei Entnahme von 50 l pro Filter im Kubikmeter Luft schon einen Irrtum von 20—40 Keimen, und es ist klar, daß eine derartige Täuschung bei geringem Keimgehalt der Luft oder absoluter Sterilität viel schwerer ins Gewicht fallen muß, wie bei einem Keimgehalt von 3—400 Keimen pro Kubikmeter. An diesem Resultat wird auch dadurch nichts geändert, daß man den Keimgehalt für 10 l, wie es Flemming getan hat, oder für 1 l (Harz) berechnet; denn das Verhältnis der verunreinigenden Keime zu den wirklich in der Luft enthaltenen bleibt das gleiche. Diese Ueberlegung ist überhaupt notwendig, ehe man an die ziffermäßige Darstellung der Resultate herangeht. Ein Keimgehalt von 20—40 Keimen pro Kubikmeter ist unter den gegebenen Versuchsverhältnissen so ziemlich einer absoluten Sterilität der Luft gleichzustellen, weil er eben auch aus Verunreinigungen resultieren kann, und Schwankungen von 20—40 Keimen pro Kubikmeter zwischen den einzelnen Luftproben dürfen für meteorologische Betrachtungen selbstverständlich nicht verwertet werden. Etwas anderes ist es, wenn man, wie das in der Höhentabelle geschehen ist, eine ganze Anzahl von Beobachtungen zusammenfaßt und hieraus die Mittel zieht: hier kann auch schon solchen Differenzen ein Wert zugesprochen werden.

Die folgenden Betrachtungen gründen sich auf das Ergebnis von 7 Fahrten, bei welchen im ganzen 60 Bestimmungen gemacht wurden. Ein erste bakteriologische Fahrt, bei welcher mit einer anderen Methode (Harzsche) gearbeitet wurde, ist ganz außer Betracht geblieben. Die zweite mußte wegen Gewitters abgebrochen werden und lieferte nur eine Probe (mit 1749 Keimen, davon ca. 1100 Schimmelpilzen in ca. 500 m Höhe), die aber bei einer stürmischen Landung über Nacht am Erdboden gelegen hatte. Bei 4 Fahrten wurde auch auf der Erde vor der Abfahrt eine Luftprobe entnommen, und, wie aus der untenstehenden Tabelle ersichtlich ist, ergab sich schon hier ein beträchtlicher Unterschied im Keimgehalt zwischen den Sommer- und Wintermonaten. Dieses Ergebnis stimmt überein mit den früher von Miquel, Saito und Welz auf dem Erdboden gemachten Beobachtungen. Es ist leicht verständlich, wenn man bedenkt, daß die Keime der Luft vom Erdboden emporgetragen werden und nach C. Fränkels Untersuchungen die oberflächlichen Bodenschichten im allgemeinen im Sommer keimreicher sind wie im Winter. Der stärkere Keimgehalt der Luft im Sommer macht sich aber auch, wie aus Tabelle 1 ersichtlich, noch bis in die höchsten Schichten hinein geltend, so daß für die einzelnen Höhenschichten beträchtlich höhere Werte im Sommer gefunden werden wie im Winter. Die Tabelle ist so berechnet, daß die Höhenkurve der einzelnen Fahrten auf Kurvenpapier aufgetragen wurde, das der bakteriologischen Beobachtungszeit entsprechende Kurvenstück ausgeschnitten, gewogen und aus dem Gewicht durch Vergleich mit dem Gewichte eines Quadratstückes des Kurvenpapiers die mittlere Höhe während der Beobachtungszeit berechnet wurde. Es ist selbstverständlich, daß mit der Zahl der Beobachtungen die Sicherheit der Berechnung steigt. Aber wenn für die Sommermonate auch beträchtlich weniger Beobachtungen vorliegen, so sind sie immerhin doch zahlreich genug, um den Unterschied zwischen Sommer und Winter im Keimgehalt der Luft prinzipiell feststellen zu können. Die früheren Beobachter (Flemming und Harz) haben in den eigentlichen Sommermonaten keine Beobachtungen angestellt, so daß in ihren Berichten dieser Unterschied nicht zutage tritt. Flemmings Zahlen erscheinen mir ebenso wie die von Harz überhaupt teilweise bedenklich hoch, und es ist vor allen Dingen zu beanstanden, daß die jedesmal entnommene Luftmenge für die einzelnen Proben nicht direkt angegeben ist. Nach seinen Berechnungen zu schließen, hat sie bei den

Tabelle I.

Verhältnis von Keimzahl und Höhe.

Mittelwerte aus 60 eigenen Beobachtungen auf 7 Fahrten.
Die neben den Kurven stehenden Ziffern geben die Anzahl der zur Mittelbildung benützten Bestimmungen.



Freiballonfahrten ebenso wie bei Harz nur 10—20 Liter betragen, eine Menge, die, wie oben angeführt wurde, angesichts der Fehlerquellen (Verunreinigungen) im allgemeinen nicht als genügend gelten kann, wenn aus den Resultaten meteorologische Schlüsse gezogen werden sollen. Besonders auffallend sind mir die Resultate, die Flemming am 6. Januar 1906 bei fehlender Sonnenbestrahlung und zusammenhängender Schneedecke erhalten hat. Sie waren für mich Veranlassung, am 20. Februar 1909 in Kitzbühel in Tirol bei starker Schneedecke einige Untersuchungen auf Skiern auszuführen, die, wie aus Tabelle 8 ersichtlich, schon im Tal nur 148 Keime pro Kubikmeter ergaben im Mittel aus drei Bestimmungen, in einer Höhe von 200 bis 400 m aber über der Talsole nur 35 Keime pro Kubikmeter im Mittel aus 6 Bestimmungen. Dabei war an dem einen Untersuchungstage das Wetter trüb und nebelig, und trotzdem die Zahlen in der Höhe nicht größer wie am vorhergehenden Tage, wo Sonnenschein bestanden hatte. Flemming dagegen fand bei der erwähnten Fahrt in einer Höhe von 250 m über dem Erdboden 102600 Keime pro Kubikmeter. Man vergleiche in bezug hierauf auch die Resultate unserer Nachtfahrt vom 8. Februar 1909, die mir bei vollkommen schneebedecktem Erdboden gleichfalls pro Kubikmeter nur Werte von 0—100 ergeben hat und am Erdboden in München nur 165. Diese Tatsachen seien nur vorweg angeführt, um zu begründen, weshalb sowohl auf die Flemmingschen wie die Harzschen absoluten Werte, die mir beide zu hoch erscheinen, nicht näher eingegangen werden kann. Durch die Unterschiede, die hier zwischen dem durchschnittlichen Keimgehalt der höheren Luftschichten im Sommer und Winter konstatiert worden sind, ist eigentlich, wenn man bedenkt, daß sich die gleichen Differenzen am Erdboden ergeben haben, schon die Abhängigkeit des Keimgehaltes in den höheren Luftschichten von den Vorgängen, die sich am Erdboden abspielen, erwiesen. Zugleich erhellt aus Tabelle 1, daß dem Anwachsen der Höhe ein Abfall der Bakterienzahl parallel geht. Dieses Absinken macht sich, wie im Gegensatz zu der von Flemming vertretenen Ansicht hier ausdrücklich festgestellt sei, auch in der Schicht bis zu 300 m über dem Erdboden, die in unserem Falle durchschnittlich etwa 8—900 m Meereshöhe entsprechen würde, geltend. Freilich tritt uns dieses Resultat nicht bei Betrachtung der einzelnen Fahrten entgegen, weil hier, wie noch weiter ausgeführt werden soll, andere Faktoren einen entscheidenderen Einfluß üben können, sondern nur in den Durchschnittswerten, die aus allen Fahrten gewonnen sind, und auch hier im Winter und Sommer in verschiedener Art. So wird die beinahe absolute Keimfreiheit im Winter schon zwischen 1600 und 1800 m, im Sommer dagegen erst über 3000 m erreicht. Dieses Ergebnis stimmt gut mit den meteorologischen Beobachtungen überein, nach welchen die mittleren Wolkenhöhen, die ja mit aufsteigenden Luftströmen in engen Beziehungen stehen, im Sommer größer sind wie im Winter[1]). Die beobachteten „Keimgrenzen“ decken sich ziemlich mit denen in Potsdam 1896/97 für Sommer und Winter beobachteten Höhen der Basis der Cumulo-Nimbi. Der Höhenabfall der Keimzahl ist im Winter ein gleichmäßiger, im Sommer dagegen machen sich Unregelmäßigkeiten geltend. Sie sind bei dieser Art der Berechnung vielleicht eine Folge der geringeren Zahl von zugrunde liegenden Bestimmungen, zum Teil aber sicherlich auch durch andere Faktoren bedingt. In erster Linie wird man daran erinnern müssen, daß im Sommer

---

1) Siehe Tabelle bei Hann, Meteorologie, p. 207.

auch das Spiel der auf- und absteigenden Luftströme zu berücksichtigen ist, und daß sich demgemäß nicht so regelmäßige Abfälle in der Bakterienzahl zeigen können, wie im Winter.

Die Uebereinstimmung, welche sich für die Zone der relativen Keimfreiheit mit der Höhe der aufsteigenden Luftströme im Sommer und Winter bei den Durchschnittswerten aus allen Fahrten ergeben hat, legt es nahe, diesen Faktor auch zur Erklärung der bei den einzelnen Fahrten gewonnenen Ergebnisse heranzuziehen. Es ist ohne weiteres klar, daß nur durch aufsteigende Luftströme Teile irdischen Ursprungs in die höheren Luftschichten befördert werden können, und ebenso verständlich ist es, daß durch absteigende Luftströme und durch Sedimentierung ein Teil der Keime wieder zurückkehrt. Für eine teilweise Sedimentierung spricht schon die gleichzeitige Abnahme des Staubgehaltes und der Keime mit dem Anwachsen der Höhe, wie sie sich aus den Durchschnittswerten ergeben hat. Flemming will die Keimverteilung in der Luft vor allem durch die abtötende Wirkung der Sonnenstrahlen erklären. Er zieht hierfür neben seinen numerischen Fahrtresultaten bei mangelnder und vorhandener Sonnenbestrahlung zur Erklärung der Auslese, welche die Bakterienarten mit der Höhe erfahren, vor allem auch die Farbstoffbildung der gefundenen Bakterienarten heran. „Die gefundenen Farbstoffbildner weisen nur grüngelbe bis rotbraune Farben auf. Diese erscheinen neben den schwarzen als die geeignetsten, um die allein schädlichen chemisch wirkenden blauen, ultravioletten Strahlen der Sonne zu absorbieren und so das darunter befindliche lebende Gewebe vor der Vernichtung zu schützen.“

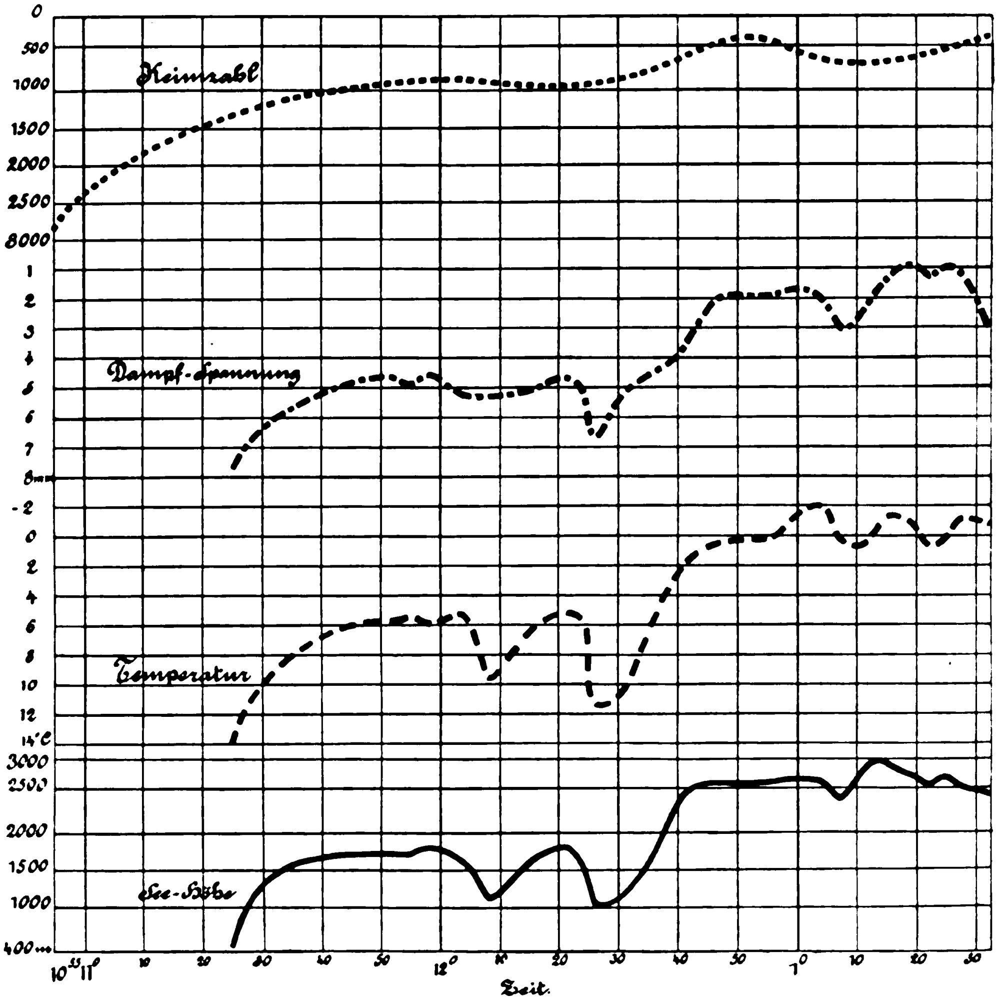
Demgegenüber ist folgendes anzuführen: 1) Diese schützende Wirkung der Bakterienfarbstoffe ist einstweilen eine Hypothese. die sehr wohl richtig sein kann, aber jedenfalls durch Untersuchung der Bakterien- resp. ihrer Farbstoffe in bezug auf die Sonnenstrahlung noch nicht gestützt ist. 2) Wäre die Wirkung der Sonnenstrahlen eine so ausschlaggebende, so müßte man bei der längeren Sonnenscheindauer für die unteren Luftschichten im Sommer einen niedrigeren Keimgehalt erwarten als im Winter, ferner am Tage einen niedrigeren Keimgehalt als in die Nacht, was den Tatsachen nicht entspricht (s. z. B. Nachtfahrt vom 8. Februar). 3) Durch die Sonnenstrahlung könnte man wohl noch allenfalls die Abnahme der Keime in der Höhe erklären, weil bekanntlich die Stärke der Strahlung in der Höhe durch Verminderung der Absorption erhöht wird, nicht aber den gleichzeitigen Rückgang des Staubgehaltes, dessen Abnahme in der Höhe ich in Uebereinstimmung mit Lüdeling (Illustr. äronaut. Mitt. 7, p. 321—329) u. a. durch folgende Tabelle, die einer Fahrt vom 21. Juni 1907 (Führer Prinz Georg von Bayern) entstammt, demonstrieren kann:

Höhe m	Ort	Staubteilchen pro ccm
640	Oberwiesenfeld	15 000
	Krankenhaus Schwabing	10 000
800	Isar	10 000
800	2—3 km von Isar	15 000
900	Eicherloh-Moor	5 000
1400	Langersdorf	3 000
1500	Nähe der Donau	3 000
1400	Nähe der Donau	2 000
1600	über der Donau	1 000
1800	ca. 1 km jenseits der Donau	2 500
1800	Moldau in Sicht, Gipfel von Hochlichtl	2 500
1200	Moldau	1 500

Ich halte die Staubuntersuchungen, die mit dem kleinen Aitkenschen Handapparat (Mechaniker Plath, Potsdam) ausgeführt wurden, für nicht ganz so zuverlässig, wie die mit meiner Methode gewonnenen Bakterienwerte: die untersuchte Luftmenge muß hier sehr klein sein, daher Fehler bedeutend ins Gewicht fallen, und die Untersuchungen müssen nahe dem Korbrand und den Kleidern des Beobachters ausgeführt werden, so daß die Verunreinigung der Luft durch Ballastsand etc. immerhin eine Rolle spielt. Indessen sind die Unterschiede nach der Höhe hier so klar, daß ich keinen Anstand nehme, die Tabelle zu verwerten.

Tabelle II.

Fahrt vom 1. August 1907.
Meteorologischer Beobachter: Frhr. v. Bassus.
Bakteriologischer „ : Hahn.



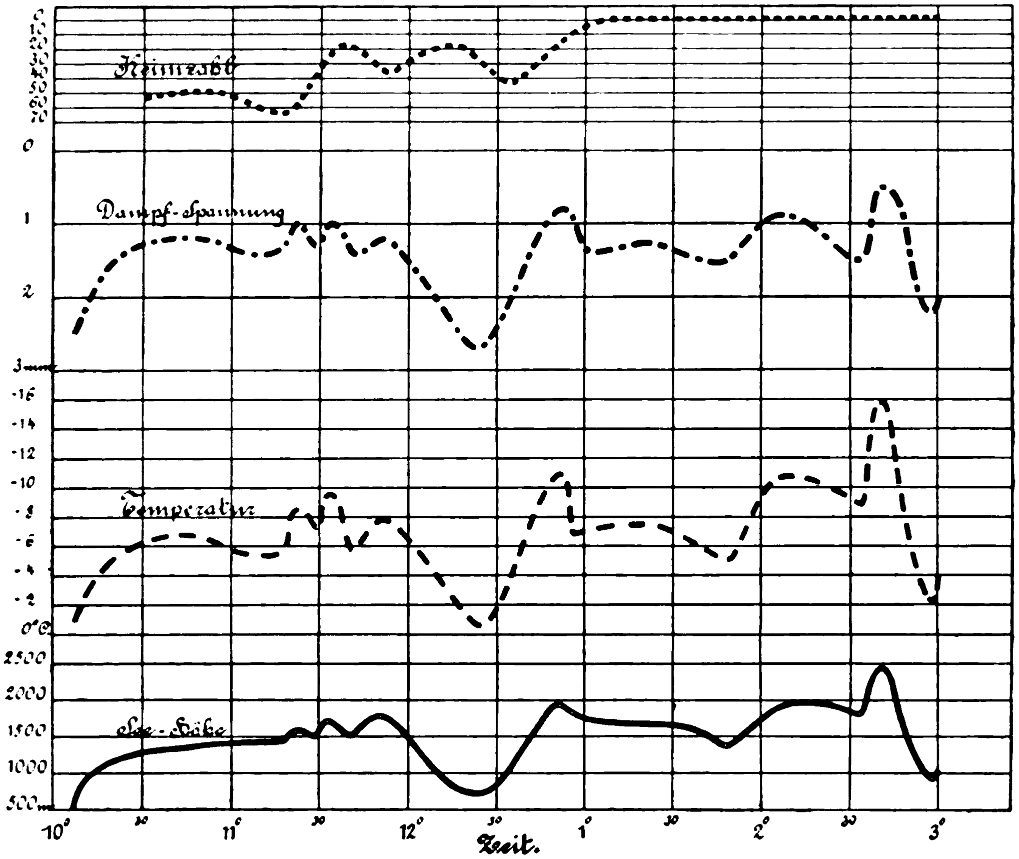
Die Staubuntersuchung sollte hier in erster Linie einen Befund bestätigen, den ich schon früher gemacht hatte: nämlich die Abnahme des Staubgehaltes über den großen Flußläufen, welche nach meiner Auffassung eine Erklärung für die Abbildung der Flußläufe in den Wolkenphotographieen (Frhr. v. Bassus) (Mangel an Kondensationskernen) geben würde. Sie hat aber neben dieser Bestätigung die Abnahme der Staubteilchen in der Höhe dargetan, die, wie gesagt, durch Sonnenstrahlung absolut nicht zu erklären ist, sondern eigentlich nur durch Sedimentierung.

Ebensowenig wie diese, wird man eine direkte Wirkung der Temperatur zur Erklärung der Keimverteilung heranziehen können. Nach den Kurven, welche die 3 Fahrten vom 2. Aug. 1907, 4. März und 25. Juli 1908 ergeben haben, könnte man bei Vergleich mit der Keimkurve geneigt sein, der Temperatur einen Einfluß auf den Keimgehalt zuzusprechen. Indessen sprechen biologische Gründe gegen einen solchen Zusammenhang. An eine entwickelungshemmende Wirkung der Temperatur ist hier überhaupt nicht zu denken; denn eine Vermehrung der Keime in der Luft erscheint schon deshalb ausgeschlossen, weil es an dem nötigen, in löslicher Form erforderlichen Nährmaterial gebricht. Auch die Langsamkeit, mit der sich fast alle aus der Luft abfiltrierten Keime unter den günstigsten Bedingungen der künstlichen Laboratiumskultur entwickeln, spricht gegen die Möglichkeit einer Vermehrung in der Luft. Es könnte sich also nur um eine abtötende Wirkung der Temperatur handeln, die aber erfahrungsgemäß namentlich bei Sporen erst durch sehr viel tiefere Temperaturen erzielt werden kann, als sie in den höheren Luftschichten, die wir durchfahren haben, jemals vorkommen dürften.

Tabelle III.

Fahrt vom 4. März 1908.

Meteorologischer Beobachter: Oberpostassessor Bletschacher.
Bakteriologischer „ : Hahn.



Es bleibt also für die Erklärung der auf den einzelnen Fahrten gefundenen Keimverteilung eigentlich nichts übrig als auch hier vor allem die aufsteigenden Luftströme, wie dies auch Emden bereits getan hat, heranzuziehen. Ist dieser Faktor von Wichtigkeit, so muß sich auch ein Zusammenhang zwischen dem Feuchtigkeitsgehalt der untersuchten Luftschicht und ihrem Keimgehalt ergeben. Denn ein wesentliches Charakte-

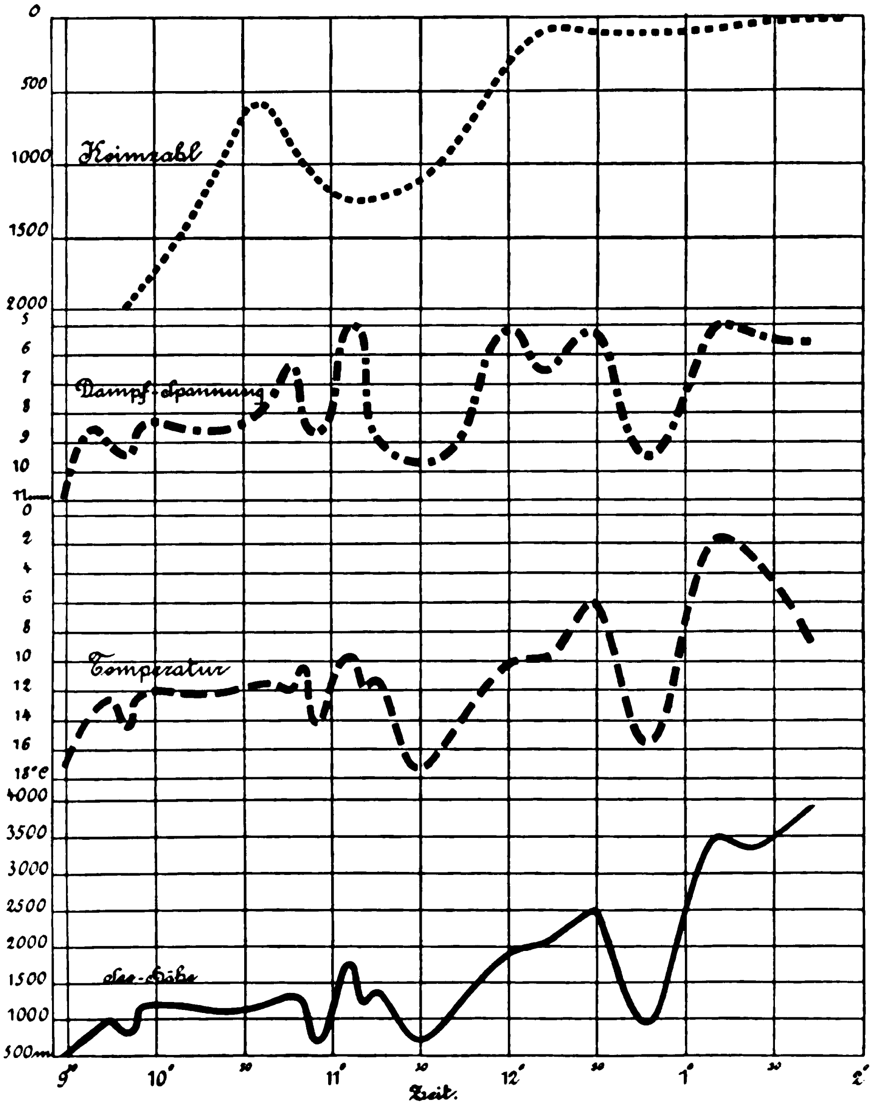
ristikum einer von der Erde aufsteigenden Luftschicht ist ihr Feuchtigkeitsgehalt. Schon früher wurde erwähnt, daß periodische Feuchtigkeitsbestimmungen, wie sie die Benutzung des einfachen Assmannschen Aspirationspsychrometers ermöglicht, keine ganz befriedigenden Aufschlüsse für den Vergleich mit dem Keimgehalt ergeben können, wenn sie nicht überaus häufig ausgeführt werden. Die Zeit der Bakterienfiltration ist immerhin eine so lange, daß eine einzelne Feuchtigkeitsbestimmung nicht genügt. Es muß also zur Entscheidung der Frage, ob sich bei Gegenüberstellung des Feuchtigkeitsgehaltes mit der Keimzahl eine gewisse Parallele und damit ein Anhaltspunkt für die Wirkung aufsteigender Luftströme auf den Keimgehalt ergibt, vor allem auf die erwähnten drei Fahrten, bei denen fortlaufende Aufzeichnungen gemacht wurden, zurückgegangen werden. Hier erhebt sich zunächst die Frage, welcher von den verschiedenen Ausdrucks- und Berechnungsmöglichkeiten

Tabelle IV.

Fahrt vom 25. Juli 1908.

Meteorologischer Beobachter: Oberpostassessor Bletschacher.

Bakteriologischer „ : Hahn.



für den Feuchtigkeitsgehalt der Luft bei der Gegenüberstellung mit dem Keimgehalt der Vorzug zu geben ist. Es ist klar, daß die relative Feuchtigkeit hier nicht brauchbar ist, weil bei dieser Berechnungsart noch ein anderer Faktor, die Temperatur, miteinbezogen wird. Es wäre zweifellos am richtigsten, den Wassergehalt in Gramm auf die Gewichtseinheit trockener Luft zu beziehen oder das sogenannte Mischungsverhältnis, d. h. Gramm Wasser im Kilogramm trockener Luft zu berechnen. Aber die

Tabelle IV.

Fahrt vom 12. November 1908. Führer: Oberpostassessor Bletschacher.
Aufstiegsort: München 10^{39} vorm. Landung: Grund bei Burghausen 2^{05} nachm.

Meteorologische Daten.

Zeit	Meereshöhe	Lufttemperatur	Luftdruck mm/Hg	Relative Feuchtigkeit	Spanng. d. H_2O in mm/Hg	Bemerkungen
11^{15}	910	+ 5,6°	679	—	—	Wolkengrenze
11^{29}	1000	+ 2,6°	670	69	3,8	„
12^{29}	1000	— 0,1°	670	79	3,6	Klar

Bakteriologische Resultate.

Zeit		Durchschnittliche Höhe	Liter Luft	Keimzahl absolut	Davon Schimmelpilze	Keimzahl im cbm	Bemerkungen
Anfang	Ende						
10^{42}	11^{03}	650	125	7	4	56	Leicht bedeckt
11^{05}	11^{27}	943	130	5	2	38	„ „
11^{30}	11^{52}	1065	131	3	1	22	Ueber den Wolken
11^{54}	12^{14}	1016	121	5	2	33	Klar
12^{16}	12^{38}	987	125	5	3	40	„
12^{40}	1^{00}	1019	119	3	1	26	Ueber den Wolken
1^{02}	1^{22}	1147	123	4	2	33	Klar
1^{24}	1^{54}	1523	126	3	1	24	„

Tabelle V.

Fahrt vom 26. November 1908. Führer: Oberpostassessor Bletschacher.
Aufstiegsort: München 11^{02} vorm. Landung: Seekirchen b. Salzburg 1^{27} nachm.

Meteorologische Daten.

Wegen Versagens des Aspirationspsychrometers konnte nur eine Bestimmung gemacht werden.

Zeit	Meereshöhe	Lufttemperatur	Luftdruck mm/Hg	Relative Feuchtigkeit	Spanng. d. H_2O in mm/Hg	Bemerkungen
11^{51}	1270	+ 0,5°	652	100	4,8	zw. ni u. strat. cu.

Bakteriologische Resultate.

Zeit		Durchschnittliche Höhe	Liter Luft	Keimzahl absolut	Davon Schimmelpilze	Keimzahl im cbm	Bemerkungen
Anfang	Ende						
10^{13}	10^{28}	516	77	40	35	519	Erde. Luftschifferabteilung
11^{12}	11^{23}	1020	57	3	1	53	Ueb. d. Ballon ni u. strat. cum.
11^{31}	11^{44}	1200	52	5	2	98	Teilweise im Nebel
11^{45}	11^{57}	1320	50	6	1	120	Im Nebel
12^{00}	12^{20}	1378	92	2	1	22	„ „
12^{23}	12^{37}	1299	64	1	0	16	„ „
12^{46}	12^{55}	1312	74	5	3	68	Klar, Waginger See
1^{00}	1^{15}	1254	51	3	0	59	„ „ „

Tabelle VI.

Fahrt vom 12. Dezember 1908.
Führer Frhr. *Hans v. Veltheim*. Aufstiegsort: Augsburg, $4^1/_2$ Uhr nachmittags.
Landung: Langschlag in Niederösterreich, 11^{35} nachts.

Meteorologische Daten.

Zeit	Meereshöhe	Lufttemperatur	Luftdruck mm/Hg	Relative Feuchtigkeit	Spanng. d. H_2O in mm/Hg	Bemerkungen
5^{21}	950	+ 7,8	680	89	7,0	Ortsbestimmung wegen der Dunkelheit unmöglich
7^{45}	1000	— 0,2	675	78	3,5	Unter uns dichte Strat. Cu.
8^{00}	1220	— 3,2	652	87	3,1	Unten und oben Strat. Cu.
10^{02}	920	— 3,2	680	82	3,0	—

Bakteriologische Resultate.

Zeit		Durchschnittliche Höhe	Liter Luft	Keimzahl absolut	Davon Schimmelpilze	Keimzahl im cbm	Bemerkungen
Anfang	Ende						
2^{14}	2^{30}	480	75	45	42	600	Augsburg, Erdboden
4^{45}	5^{17}	700	138	12	11	87	Klar
5^{22}	5^{50}	950	107	8	4	75	Aussicht zur Erde teilweise durch Nebel verlegt
5^{54}	6^{45}	862	160	15	11	94	—
6^{48}	7^{40}	921	98	3	2	31	—
7^{45}	9^{00}	951	119	15	10	126	Nebelig

Keimzahl pro Kilogramm trockener Luft zu berechnen, erscheint gekünstelt, weil wir die Keime nicht nach der Gewichtseinheit bestimmen können. Unter diesen Umständen erschien es mir zweckmäßiger, die Feuchtigkeitsangaben einfach nach der Dampfspannung zu geben, deren Zahlen übrigens von dem „Mischungsverhältnis“ nur um Werte differieren, die für das Verhältnis zur Keimzahl keine Rolle spielen. Aus den untenstehenden Kurven der drei Fahrten ist ohne weiteres ersichtlich, daß eine gewisse Parallelität zwischen Dampfspannung und Keimgehalt in der Tat vorhanden ist, die sich hauptsächlich in den großen Schwankungen der Sommerfahrten geltend macht, und zwar so, *daß mit abnehmender Dampfspannung auch die Keimzahl fällt*. Feinere Differenzen, wie sie namentlich bei der Winterfahrt vom 4. März im Feuchtigkeitsgehalt vorhanden sind, kommen nicht so klar zum Ausdruck. *Immerhin ist, wenn man in Betracht zieht, daß in dem einen Falle eine physikalische, im anderen eine biologische Meßmethode zur Anwendung gebracht wurde, das Resultat ein sehr befriedigendes.* Die Ergebnisse der biologischen Methode stützen die Ansicht, daß die Bestimmung des Feuchtigkeitsgehaltes ein Bild von der Schichtung der aufsteigenden Luftströme ergibt, und andererseits beweist die Uebereinstimmung der Resultate, daß die angewandte biologische Methode sehr wohl Aufschlüsse über Veränderungen der durchfahrenen Luftschichten zu geben vermag. Freilich wird das letztere nur da zutreffen, wo es sich um relativ große Schwankungen handelt, und damit werden die Bestimmungen der Keimzahl im Sommer, wo die Keimzahl an sich größer ist, immer eher für derartige Vergleiche geeignet sein, wie die im Winter. Die Gründe liegen in der Methode, deren Feinheit durch die Möglichkeit von Verunreinigungen und die Beschränkung der in der Zeiteinheit zu filtrierenden Luftmenge, wie oben ausgeführt wurde, begrenzt ist.

Tabelle VII.

Fahrt vom 8 Februar 1909.

Führer Frhr. Hans v. Veltheim. Aufstiegsort: München, 4^{30} nachm. Landungsort: Irsingen Reg.-Bez. Schwaben, 11^{22} nachts.

Meteorologische Daten.

Zeit	Meereshöhe	Lufttemperatur	Luftdruck mm/Hg	Relative Feuchtigkeit	Spanng. d. H_2O in mm/Hg	Bemerkungen
4^{25}	516	— 6,0	—	—	—	Luftschifferabteilung
4^{50}	1240	— 10,0	654	51	1,1	Klar
5^{05}	1600	— 10,5	620	50	1,0	Unter uns Nebel, über uns Sonne
5^{45}	1550	— 10,5	625	80	1,6	Klar unter dem Ballon, über dem Ballon Strat.
6^{20}	1000	— 8,0	670	71	1,7	Unverändert
7^{00}	1600	— 11,0	620	65	1,3	Wechselnde Bewölkung
7^{15}	1550	— 11,0	625	65	1,3	" "
8^{43}	900	— 8,0	680	85	2,1	Mond und Sterne kar sichtbar
9^{23}	1400	— 11,0	640	82	1,6	Nach oben und unten ziemlich klar
10^{25}	1400	— 9,5	640	84	1,8	Klar

Bakteriologische Resultate.

Zeit		Durchschnittliche Höhe	Liter Luft	Keimzahl absolut	Davon Schimmelpilze	Keimzahl im cbm	Bemerkungen
Anfang	Ende						
3^{45}	3^{55}	516	33	5	5	165	München, Erdboden
4^{45}	5^{03}	1180	37	1	0	27	Nahe München
5^{07}	5^{23}	1500	20	2	1	100	Ueber den Wolken in der Sonne, nahe Bahnhof Pasing
5^{25}	5^{45}	1280	27	3	3	37	Im Nebel
5^{50}	6^{24}	1250	45	1	0	22	Ueber den Wolken, untergehende Sonne
6^{40}	7^{45}	1410	37	0	0	0	Nachts 2mal Sandballast ausgegeben
7^{50}	8^{19}	1275	48	3	3	26	Sandballastausgabe, Mond klar
8^{23}	8^{55}	1341	38	1	1	26	Sandballastausgabe
9^{00}	9^{30}	1454	51	0	0	0	Sandballastausgabe, klar
9^{37}	10^{07}	1174	41	2	1	48	Ohne Ballastausgabe
10^{10}	10^{30}	1415	15	1	1	66	—

Die geringen entnommenen Luftmengen erklären sich durch teilweises Versagen der Akkumulatoren.

Tabelle VIII.

Untersuchungen in Kitzbühel (Tirol) am 21./22. Februar bei geschlossener Schneedecke. Auf Schneeschuhen.

Tag und No.	Zeit		Höhe	Liter Luft	Keimzahl absolut	Davon Schimmelpilze	Keimzahl im cbm	Temperatur	H_2O in mm Hg	Bemerkungen
	Anfang	Ende								
21./2. 1	11^{44}	11^{57}	760	47	2	2	42	— 0,5	3,6	Tal, Schattenseite, windstill
21./2. 2	12^{34}	12^{46}	800	48	4	1	84	— 1,0	3,4	Goinger Bauer, windstill, sonnig
21./2. 3	1^{25}	1^{37}	1050	50	2	0	40	— 2,0	3,1	Obholz, windstill, sonnig
21./2. 4	2^{21}	2^{32}	1200	47	1	1	21	— 4,0	2,6	Blatzer-Alm, windstill, sonnig
21./2. 5	2^{34}	3^{01}	1200	124	1	1	8	— 4,0	2,6	Ort von Bestimmung 4
21./2. 6	6^{29}	6^{44}	760	51	8	7	160	—	—	Ort wie bei Bestimmung 1, schwacher Nordwind
22./2. 7	10^{23}	10^{37}	760	46	11	9	242	— 4,5	2.8	Ort wie bei Bestimmung 1, stärkerer Nordwind
22./2. 8	11^{32}	11^{50}	1000	46	0	0	0	— 5,5	3,0	Steinbauer, Schneefall, windstill
22./2. 9	12^{49}	1^{15}	1200	86	5	5	55	— 6,2	2,8	Oberkampen, windstill

Die Untersuchungen sollen noch fortgesetzt werden, und ich behalte mir vor, über die weiteren Resultate, sowie über die in der Luft gefundenen Keimarten, die bereits, soweit als möglich, diagnostiziert sind, wobei ich von Herrn cand. pharm. R. Wallenreuter und Herrn Nakazawa in dankenswertester Weise unterstützt wurde, zu berichten. Die gefundenen Schimmelpilzarten sind an Zahl auffallend gering: es kehren immer dieselben wieder. Stäbchenformen sind äußerst selten. Am häufigsten kehren die gelben Sarcine-Arten in mannigfachen Varitäten wieder.

Als Resultat dieser Untersuchungen sei folgendes festgestellt:

I. Die von mir gewählte Apparatur und Methodik erscheint für die bakteriologische Luftuntersuchung vom Ballon aus geeigneter, als die bisher bekannten, weil sie die fortlaufende, vor Verunreinigungen möglichst geschützte Entnahme größerer Luftmengen in der Zeiteinheit gestattet und damit zum erstenmal die Aufstellung von Keimzahlkurven.

II. Für meteorologische Zwecke können die bakteriologischen Luftuntersuchungen nur nutzbar gemacht werden, wenn während der Probeentnahme gleichzeitig Bestimmungen der Höhe, Temperatur und Feuchtigkeit, und zwar möglichst fortlaufend, gemacht werden.

III. Die Keimzahl in der Luft wird beeinflußt:

1) Durch die Sedimentierung. Deswegen finden wir bei Durchschnittswerten aus einer größeren Zahl von Bestimmungen eine Abnahme der Keimzahl und der Staubzahl mit der Höhe.

2) Durch aufsteigende und absteigende Luftströme. Deswegen finden wir:

a) im Winter in den höheren Luftschichten, ebenso wie am Erdboden, durchschnittlich eine geringere Keimzahl wie im Sommer,
b) die Höhenzone der relativen oder absoluten Keimfreiheit im Winter niedriger wie im Sommer,
c) auf den einzelnen Fahrten ein Parallelgehen des Keimgehaltes mit dem Feuchtigkeitsgehalt der Luftschichten, soweit größere Schwankungen in Frage kommen.

3) Möglicherweise auch durch Sonnenstrahlung. Indessen lassen die bisherigen Beobachtungen (Flemming) kein sicheres Urteil über die Wirkungsgröße dieses Faktors zu und eine Reihe von Gründen (niederer Keimgehalt der unteren Schichten im Winter, gleichzeitige Abnahme des Staubgehaltes) sprechen gegen einen erheblichen Einfluß.

IV. Keimgehalt und Staubgehalt der Luft scheinen, soweit die nicht sehr sichere Staubbestimmung ein Urteil zuläßt, im großen und ganzen parallel zu gehen.

Zum Schluß spreche ich den Führern meiner Ballonfahrten, Freiherrn v. Bassus, Oberpostassessor Bletschacher, Freiherrn Hans v. Veltheim, von denen die beiden ersteren mich ganz besonders durch die Ueberlassung der meteorologischen Fahrtresultate für die ersten drei Fahrten unterstützt haben, sowie dem Assistenten der meteorologischen Zentralstation, Herrn Privatdozent Dr. Schmauss, meinen aufrichtigsten Dank aus.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über Fetteinschlüsse bei Bakterien.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institut der Jag. Universität in Krakau (Vorstand Prof. O. Bujwid).]

Von Dr. **Philipp Eisenberg,** Assistenten am Institut.

Vor etwa einem Jahre habe ich in dieser Zeitschrift ausgedehnte Untersuchungen „Ueber Fetteinschlüsse bei Bakterien“ veröffentlicht, in denen es mir gelang, eine ganze Reihe von neuen Färbungsmethoden für diese Gebilde aufzustellen, sowie ihre Fettnatur als sehr wahrscheinlich zu demonstrieren. Seither habe ich sehr eingehende Untersuchungen über Fettfärbung im tierischen Gewebe angestellt, die viele neue Methoden und Anschauungen auf diesem interessanten Gebiete ergeben haben. Bezüglich der Resultate dieser Arbeit, sowie vor allem bezüglich des Vergleichs der Fettfärbung bei Bakterien, sowie im tierischen Gewebe, der recht beträchtliche Differenzen aufweist, sei hier auf die Publikation hingewiesen, die demnächst im Virchowschen Archiv erscheinen soll. Dort findet sich auch eine eingehende Besprechung der theoretischen Grundlagen der Fettfärbung, die in der zuerst zitierten Arbeit nur kurz angedeutet waren. Vorliegende Mitteilung soll dagegen einige Resultate bringen, die ich bei fortgesetzten Untersuchungen über die Fettfärbung bei Bakterien erlangt habe.

In meiner ersten Mitteilung habe ich verschiedene Entwickelungsfärbungen der Fettgranula beschrieben, bei denen Naphthol, Phenol, Jod und Pikrinsäure, sowie verschiedene analog konstruierte Körper als Beizen fungieren. Es wurde dort schon darauf hingewiesen, daß alle diese Körper fettlöslich sind und mit diversen basischen Farbstoffen wasserunlösliche, aber alkohol- und fettlösliche Niederschläge geben. Es liegt nahe, anzunehmen, daß beide Eigenschaften bei der Färbung der Granula eine Rolle spielen, indem die Beize dank ihrer Fettlöslichkeit in die Granula hineindiffundiert und dort zur Entstehung der fettlöslichen Farbstoffverbindung Anlaß gibt, die die Granula physikalisch anfärbt. Tatsächlich ergaben zwei weitere von mir untersuchte Körper. die Fettlöslichkeit und Niederschlagsbildung mit basischen Farbstoffen mit den obengenannten gemeinsam haben, gute Eignung als Beizen bei der Granulafärbung. Die erwähnten Eigenschaften des Goldchlorids und des Sublimats haben schon früher Höber bewogen, sie zum Nachweis der Wege der Fettresorption im Darm zu verwenden. Schwemmt man nun fettführende Bacillen in einer 1-proz. Goldchlorid- oder in einer konzentrierten wässerigen Sublimatlösung auf und setzt wässerige Fuchsinlösung hinzu, so erfolgt elektive Granulafärbung; die Bilder sind freilich nicht sehr schön wegen der ziemlich starken Niederschlagsbildung. Palladiumchlorid, das in Fetten nur schlecht löslich ist, gab dementsprechend auch keine Fettfärbung mit Fuchsin.

So wie bei den anderen Beizen, wurde auch hier versucht, mit der fertigen Farbstoffverbindung die Färbung zu erzielen; tatsächlich gelingt dies, wenn man die gefällte Goldchorid-Fuchsinverbindung in alkoholischer Lösung mit in Wasser suspendiertem Bacillenmaterial zusammenbringt. Auch an fixiertem Material färbt diese alkoholische Lösung unsere Granula, wenn auch — wie bei anderen Methoden — nicht ganz elektiv; sie erscheinen dunkelrot auf dem hellrosafarbenen Bacillenleib. Wie bei den meisten Beizenfärbungen (s. meine Arbeit im Virchowschen Archiv) ist auch hier am tierischen Gewebe (menschliche Fettleber) keine Fettfärbung zu erzielen, weder durch sukzessive Einwirkung von Beize und Farbstoff, noch durch die fertige Farbstoffverbindung; diese Verbindung wird vom Gewebe gespalten und das freiwerdende Fuchsin färbt das Gewebe, ohne daß das Fett sich mitfärbt — ein Hinweis auf die verschiedenen Affinitätsverhältnisse zwischen dem Fett, dem Protoplasma und dem Farbstoff bei den Bakterien einerseits und bei den tierischen Geweben andererseits. Außer der Rosanilin-Goldchloridverbindung erwiesen sich als geeignet für Granulafärbung die Methylviolett-, Methylgrün-, Safranin-, Rhodamin B-Verbindungen, negative Resultate hatte ich bei den Verbindungen des Pararosanilins, Viktoriablau B, Neutralrot, Vesuvin, unsichere mit der Methylenblauverbindung. Mit der Sublimatfuchsinverbindung konnte ich weder an nicht fixiertem, noch an fixiertem Bacillenmaterial, noch auch am tierischen Gewebe Fettfärbung erzielen.

Welcher Art diese Salzverbindungen sind, ob es sich um Doppelsalzbildung oder um physikalische Attraktion handelt, muß natürlich unentschieden bleiben. Es mag aber hier daran erinnert werden, daß bereits vor 22 Jahren Unna in seinen verdienstvollen farbchemischen Untersuchungen über „Rosaniline und Pararosaniline“ diese Frage erwogen und im Sinne einer ganz besonderen, nicht den chemischen Aequivalenzgesetzen folgenden Bindung entschieden hat. Wichtig ist auch der von ihm geführte Nachweis, daß die Fuchsin-Goldchloridverbindung tatsächlich Gold enthält, das im Aschenrückstand gefunden wird. Versuche mit anderen Salzen, denen die Fettlöslichkeit abgeht (NaCl, Fe_2Cl_6, $CuSO_4$, $AgNO_3$, $ZnCl_2$), ergaben negative Resultate, ein neuerlicher Beweis für die Wichtigkeit der Fettlöslichkeit der Beize bei unseren Färbungen. Auch die Verbindung von Fuchsin mit Uranacetat erwies sich als unwirksam, trotzdem sie an menschlicher Fettleber eine schöne, wenn auch nicht ganz elektive Fettfärbung gibt (Fett dunkelrot, Gewebe blaßrosa).

An die Farbstoff-Salzverbindungen reihen sich in ihrer Konstitution und Wirkungsweise wahrscheinlich die sogenannten „neutralen Farbstoffverbindungen“, die durch Einwirkung von basischen Farbstoffen auf saure entstehen. In der Histologie finden dieselben Verwendung, einerseits zur Feststellung der chemischen Affinitäten der Gewebsbestandteile, andererseits aber zur Darstellung der sogenannten neutrophilen Leukocytengranulation. Dabei zeigen sich von basischen Farbstoffen meist nur diejenigen, die die Ammoniumgruppe enthalten, von sauren nur Polysulfosäure der Klasse I, sowie Eosin als geeignet zur Herstellung von neutralen Farbstoffgemischen. Wir haben bereits in der ersten Mitteilung in den Verbindungen der Pikrinsäure sowie anderer Nitrofarbstoffe solche neutrale Farbstoffverbindungen kennen gelernt und als zur Granulafärbung geeignet befunden. In einer anderen, kürzlich erschienenen Arbeit (diese Zeitschr. Bd. 49. Heft 4. p. 480) fand ich, daß bei der sogenannten Aurantia-Methylviolettmethode sich zuweilen (nicht konstant) größere Fetteinschlüsse violett färben (s. daselbst Fig. 19, 23, 41, 42). Dieser Befund wurde nun weiter verfolgt, indem durch Einwirken einer wässerigen Aurantialösung auf eine wässerige Methylviolett B-Lösung ein Niederschlag erhalten wurde, der als in Wasser unlöslich, in in Alkohol löslich sich erwies. Mit der alkoholischen Lösung dieser Verbindung wurde nun sowohl an frischem wie an fixiertem Bacillenmaterial (Milzbrand, Subtilis, Tumescens, B. bulgaricus) eine elektive rotviolette Granulafärbung erzielt, nur selten färbt sich der Bacillenleib

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

blaßrosa mit. Störend wirkt in solchen Präparaten, wie auch bei allen folgenden Verbindungen, die mehr oder wenige reichliche Niederschlagsbildung — dafür können aber mittels schwacher Methylenblaulösung (bei anderen Verbindungen eventuell andere Nachfärbung) schöne Doppelfärbungen erzielt werden. Die Präparate werden in Wasser untersucht, in Zedernöl oder Balsam werden zum Teil die Niederschläge gelöst, zum Teil aber auch die Granula entfärbt. Sehr schöne Färbung bekommt man auch, wenn man die Aurantia-Methylviolettverbindung statt in Alkohol in (40-proz.) Formalin auflöst, das überhaupt ein gutes Lösungsmittel für Fettfarbstoffe abgibt (s. meine Arbeit im Virchowschen Archiv). Von anderen Aurantiaverbindungen gaben positive Resultate die Methylviolettverbindung: Granula graublau, Bacillen blaßrosa, die Rosalinviolettverbindung: Rotviolett-hellrosa, die Methylgrünverbindung: Elektiv grün, ein unsicheres Resultat gab die Anilinblauverbindung: graugrünlich-gelb, negative Resultate die Viktoriablau B-, Indulinspl.- und Methylviolett B-Verbindung; mit Fuchsin, Pararosanilinchlorhydrat, Malachitgrün und Methylenblau gab Aurantia keine Fällung. Positive Resultate wurden ferner erzielt mit folgenden Naphtholgelb-Derivaten: Methylviolett-B-Derivat: Elektiv rot, Fuchsin-Derivat: Hochrot-blaßrosa, Pararosanilin-Derivat: Ebenso, Rosanilinviolett-Derviat: Ebenso, keine Granulafärbungen gaben die Methylviolett-, Methylviolett 7 B-, Malachitgrün-, Methylenblau-Derivate. Die Martiusgelb-Methylviolett B-Verbindung färbt violett-blaßviolett, die Martiusgelb-Rosanilinviolettverbindung dunkelrotrosa. Von bereits in der ersten Mitteilung studierten Verbindungen gaben ferner Granulafärbung an fixiertem Material die Jod-Methylviolett B-Verbindung: Blaßviolett elektiv, sowie Nachtblau-Pikrat: Grün-graugrünlich. Negative Resultate gaben die Verbindungen von Methylviolett B mit Wasserblau 3 B, Alkaliblau, Viktoriagelb, Rosolsäure, Alizarin, Eosin, sowie die Verbindungen von Fuchsin und Methylenblau mit Wasserblau und Alkaliblau und von Vesuvin mit Säurefuchsin. Die Prüfung dieser Verbindungen an menschlicher Fettleber ergab zumeist von den obigen abweichende Resultate; positive Resultate gaben: Aurantia-Methylviolett B: Fett rotviolett, Gewebe graugelb, Aurantia-Viktoriablau B: Blaßgrünblaugelb, Nachtblau-Pikrat: Blaublaßgrün, Aurantia-Rosanilinviolett: Hochrot, blaßrosa, Aurantia-Aethylviolett: Graubräunlich elektiv, Fuchsin-Uranacetat: Rot-blaßrosa. Alle anderen Kombinationen erwiesen sich als ungeeignet, indem zumeist das Gewebe die Verbindung zerlegte und die basischen Komponenten an sich riß. Es wurde erwartet, daß vielleicht hochkolloidale Farbstoffe relativ stabile Verbindungen geben würden, die sich dann zur Fettfärbung eignen könnten — jedoch erwies sich diese Hoffnung bei näherer Prüfung als trügerisch. Die Methylviolett-Benzopurpurinverbindung wurde zwar nicht zerlegt — färbte aber auch kein Fett, weder in Bacillen, noch im Gewebe. Die Nachtblau-Kongorotverbindung, der Teague und Buxton besondere Stabilität nachrühmen, zeigte sich in meinen Versuchen als nicht gerade beständig und zur Fettfärbung ungeeignet; die Bacillen wurden orangerot gefärbt, ebenso die Erythrocyten und der Protoplasmaleib der neutrophilen Leukocyten in Blutpräparaten.

Die besprochenen Fettfärbungen mit neutralen Farbstoffverbindungen beanspruchen gewisses Interesse, nicht so sehr nach der technischen Seite hin, die an der starken Niederschlagsbildung in den Präparaten leidet, als nach der theoretischen Seite. Faßt man die Fettfärbung, wie jetzt wohl allgemein angenommen wird, als rein physikalische, auf Löslichkeitsaffinität sich beziehende Farbstoffspeicherung auf, so stimmt damit die

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Rolle dieser neutralen Verbindungen als Fettfarbstoff gut überein. Ist die Verbindung stabil genug, so daß sie vom Gewebe resp. Bacillenprotoplasma nicht gespalten resp. nicht ganz aufgespalten wird, dann kann sie dank ihrer Wasserunlöslichkeit und der damit verbundenen Fettlöslichkeit sich im Fett lösen — und es anfärben, ohne von ihm zersetzt zu werden. Bemerkenswert ist noch, wie ich bereits früher hervorgehoben habe, daß die hier als geeignet befundenen neutralen Farbstoffverbindungen weder bezüglich der basischen, noch bezüglich der sauren Komponente den in der Histologie eruierten obenerwähnten Regeln folgen, somit eine besondere Klasse von Farbstoffen bilden. Hierher gehört auch wahrscheinlich eine Methode, die ich neuerdings geprüft habe und die sehr schöne Bilder am fixierten Präparat liefert. Es ist dies die Methode, die seinerzeit Tarchetti zur Färbung von Tuberkelbacillen angegeben hat: Um zu starke Entfärbung mit anorganischen Säuren zu vermeiden, behandelt er das in der Hitze mit Karbolfuchsin gefärbte Präparat mit gesättigter alkoholischer Pikrinsäurelösung. Wie ich annehme, wirkt dabei die Pikrinsäure nicht als Entfärbungsmittel, sondern als Beize. Da ich nun die Säurefestigkeitsreaktion ebenfalls als Fettreaktion zu betrachten geneigt bin, habe ich die Methode bei den fettführenden Bacillen versucht und sehr schöne Bilder, besonders bei Nachfärbung mit Mansonischem Methylenblau bekommen. Freilich sind auch hier nicht alle Fettkugeln gleichmäßig gefärbt, ein Mangel, der fast allen Methoden zu ihrer Darstellung an fixierten Präparaten anhaftet. Theoretisch betrachtet, ist die Methode als Modifikation der schon früher an frischem Material mit Erfolg ausgeführten Rosanilin-Pikratfärbung zu betrachten. Aehnliche Resultate gibt Entfärbung mit Jodtinktur, die der früher beschriebenen Färbung mit der Jod-Fuchsinverbindung entspricht.

Es erübrigt sich nun, noch einmal der Natur unserer Granula einige Bemerkungen zu widmen. In meiner ersten Arbeit habe ich mich „mit ziemlich großer Wahrscheinlichkeit“ für ihre Fettnatur ausgesprochen und betont, daß Benennungen, wie „sporogene Körner“, sowie „Sporoidkörper, die an einen Zusammenhang mit der Sporenbildung denken lassen, am besten als unrichtig und irreführend fallen gelassen werden. Nun will aber Růžička in einer letzthin erschienenen Arbeit seine „Sporoidkörper“ durchaus retten und wendet sich energisch gegen meine Umdeutung dieser Körper zu Fetteinschlüssen. Da nun die Auffassung dieser Granula als „Plastingebilde“ sowie die darauf von Ružička aufgebauten, ziemlich weitgehenden biologischen Spekulationen eine gewisse Bedeutung beanspruchen könnten, sehe ich mich veranlaßt, auf die Einwände von Růžička etwas näher einzugehen. Ad 1) meint Růžička, daß „histologische Färbungen in einer chemischen Frage keine Beweiskraft besitzen“. Wenn nun auch die Fettfärbungsmethoden als physikalische Lösungserscheinungen keine mikrochemischen Reaktionen stricto sensu darstellen, so können sie doch bezüglich der Fettnatur eines Gebildes etwas aussagen, wenn man einen Farbstoff verwendet, der erfahrungsgemäß mit Fett elektiv färbt (Sudan, Scharlach, Indophenol, sogenanntes Naphtholblau, richtiger Indophenolreaktion). Nebenbei sei bemerkt, daß Herr Ružička selbst seine Färbungsmethoden der Granula im Kapitel „Zur Mikrochemie der Sporoidkörper“ behandelt hat. Ad 2) glaubt Ružička, „durch besondere Versuche den Fettcharakter der Sporoidkörper ausgeschlossen zu haben“. Dazu muß ich bemerken, daß die Behandlung mit Alkohol resp. Alkoholäther, die Ružička angewandt hat, bei komplexen Zellen, mit denen man es hier zu tun hat, durchaus ungeeignet erscheint, um eine Fettextraktion aus ihrem Inneren erfolgreich durchzuführen. Die Membran wird durch diese Reagentien koaguliert und die Extrahentien können wahrscheinlich überhaupt nicht ins Innere der Bakterienzelle eindringen. Erweisen sich doch diese Mittel als ungeeignet, um z. B. Tuberkelbacillen zu entfetten, in denen das Fett resp. Wachs einen Bestandteil der Hülle ausmacht, also von außen besser zugänglich sein dürfte. So hat z. B. Zettnow gefunden, daß Chloroformextraktion wohl bei Spirillum undula minus die Färbbarkeit unserer Granula vernichtet, nicht aber bei einem großen Getreidebacillus. Auch mir gelang es beim Milzbrandbacillus an fixiertem Präparat nur unvollkommen mittels Chloroformextraktion unsere Granula verschwinden zu lassen. Erinnert sei auch an die bekanntlich schwere Extrahierbarkeit von Fett aus tierischen Geweben. Ad 3) meint Růžička: „Es verwandelt sich die gesamte Kultur in diese Körper; wenn sie Fett wären, so müßte man nach dem Verbleibe des gesamten Stickstoffes der Bakterien fragen; übrigens wäre es ein Unikum in Physiologie und Pathologie, daß sich ein lebender Körper auf Grund eigener Stoffwechselvorgänge gänzlich in Fettkugeln verwandeln würde.“ Dazu habe ich folgendes zu bemerken: Es wäre wirklich unerhört, wenn eine ganze selbständige Zelle zu Fett würde -- nur ist es nicht wahr, daß die ganzen Bacillen sich in „Sporoidkörper“ umwandeln. In meiner ersten Arbeit schreibe ich wörtlich, daß man „ältere Kulturen aus fast lauter Fettkugeln bestehend findet“ (p. 272) und auch Herr Růžička selbst erwähnt in seiner früheren Arbeit zu wiederholten Malen die mehr oder minder beträchtlichen Chromatinreste, die an den Kugeln haften oder richtiger sie umgeben (p. 267—272). So sagt er gelegentlich von Ueberimpfungsversuchen mit alten Kulturen: „Daß mit den Sporoidkugeln stets eine mehr oder minder große Menge von Chromatindetritus mitübetragen wird“ (p. 283); bei positiven Versuchen „waren im Impfmaterial verhältnismäßig zahlreiche gut färbbare geformte Chromatinreste mitenthalten“, bei negativen „fehlten entweder solche Reste oder sie waren schlecht färbbar“, d. h. zeigten herabgesetzte oder erloschene Vitalität (p. 283). Auch ein Blick auf die Fig. 4 und 7 meiner ersten Abhandlung oder auf die Abbildungen von Růžička selbst zeigt überall ein Erhaltenbleiben von Chromatinresten — wenigstens, solange die morphologische Einheit der Bakterienzelle gewahrt bleibt. Der Vorgang ist nun der, daß auf Grund bestimmter Stoffwechselvorgänge Fett in der Zelle gespeichert wird; degeneriert dann die Zelle — durch die übermäßige Fettbildung oder durch äußere Ursachen, dann wird langsam das die Fettkugeln umgebende Chromatin zerfallen — und es können dann kaum mehr färbbare Chromatinreste zurückbleiben oder auch ganz abbröckeln und freie Kugeln zum Vorschein kommen — das beweist aber bei weitem noch nicht, daß tatsächlich eine ganze lebende Zelle sich in Fett umgewandelt hat. Ad 4) will Růžička „durch Behandlung mit heißem Kalialkohol, wobei die Sporoidkugeln erhalten bleiben, den Fettcharakter derselben direkt völlig ausgeschlossen haben“. Das wäre nun tatsächlich ein ganz gewichtiger Beweis — um so mehr, als das Alkali die Bakterienmambran wohl durchdringt und der bei 2) erhobene Einwand hier kaum Geltung haben könnte. Wie hat sich nun aber Růžička davon überzeugt, daß seine „Sporoidkugeln“ nach der Extraktion noch vorhanden waren oder nicht? Wie ich schon in meiner früheren Mitteilung hervorgehoben habe, sind die von Růžička benutzten Färbungsmethoden der Granula recht mangelhaft nnd kann ich deshalb den damit erhaltenen Resultaten nur bedingten Wert zusprechen, speziell, wenn es sich um Erhaltenbleiben der Granula handelt. Da ich nun im Besitz einer Reihe ziemlich prägnanter Färbungsmethoden der Granula bin, habe ich den Versuch von **Růžička** wiederholt und, wie zu erwarten war, mit ganz abweichendem Resultat. Eine über einen Monat alte Glyzerinagarkultur von Milzbrand, voll von großen und kleinen Kugeln, wurde in Kalialkohol aufgeschwemmt und einige Minuten erhitzt, sodann wurde das Bacillenmaterial abzentrifugiert, gewaschen und auf Fett gefärbt.

Während nun das Ausgangsmaterial herrlichste Fettfärbung mit Indolphenol, α-Naphthol und Fuchsin, sowie mit Nilblau BB gab, versagten alle diese Färbungen am extrahierten Material vollständig; man sah nur leere Bacillenmembranen ohne eine Spur von Fettkugeln. Sodann wurde die Extraktion auch an fixiertem Material vorgenommen; die nachträgliche Färbung mit alkoholischem Aurantia-Methylviolett, sowie nach der Ziehl-Aurantia-Methode (p. 266 und Fig. 12 meiner ersten Arbeit) und der Tarchettischen Methode ergab wieder ein völlig negatives Resultat bezüglich der Kugeln; bei der zweiten Methode sah man rotgefärbte Bacillen mit ungefärbten, leeren Innenkörpern. Identische Resultate ergab ferner die Kalialkoholextraktion einer 24-stündigen Milzbrandkultur mit spärlicheren Granulis. Nun hat sich aber Herr **Růžička** einen Ausweg offen gelassen, indem er meint, „die Sporoidkörper könnten außer dem Plastin noch eine gewisse Menge von Fettsubstanzen enthalten“, und er könnte nun angesichts meiner soeben angeführten Befunde behaupten, es würde bei der Extraktion nur das Fett extrahiert und deshalb blieben dann die Fettfärbungen negativ, es bliebe aber doch das Plastin resp. die entfetteten Sporoidkörper zurück. Dazu wäre zu bemerken, daß wir „Körper“ ja nicht an solche, sondern nur an ihren Eigenschaften und Reaktionen erkennen: Außer der Gestalt und dem Lichtbrechungsvermögen, die beide mit der Fettnatur gut übereinstimmen, kennen wir von den „Sporoidkörpern“ eben nur die färberischen Reaktionen, die wieder am besten durch ihren Fettcharakter erklärt werden. Bleiben diese aber aus und sieht man höchstens einen leeren, ungefärbten kugeligen Raum vor sich, so hat man wohl kaum das Recht, hier noch die Existenz von irgendetwas zu vermuten, was sich nicht färbt und überhaupt durch nichts seine Existenz kundgibt. Es sei hier auch darauf hingewiesen, daß beim Spirillum undula minus ebenfalls nach Extraktion mit fettlösenden Agentien die Färbbarkeit der Granula verschwindet (Zettnow). Wir sehen also, daß der Versuch mit dem Kalialkohol, anstatt meine Ansicht von der Fettnatur unserer Granula zu entkräften, dazu gedient hat, dieselbe nur noch fester zu stützen und einen neuen, wichtigen Beweis dafür abgibt. Ad 5) behauptet endlich **Růžička**, „ich hätte als Quelle des Fettes die Kohlehydrate des Nährbodens bezeichnet“, was mit einer Beobachtung von **Zettnow** nicht im Einklang steht, der sie bei Spirillum undula maj. auch auf Peptonwasser entstehen sah. Nun habe ich gar nicht behauptet, die Kohlehydrate seien die einzige Quelle des Fettes, sondern nur gesagt: „Besonders reichlich treten die Granula auf in Glyzerin- sowie Traubenzuckeragarkulturen, ebenso auf Kartoffeln sowie Möhren; es ist wahrscheinlich, daß hier die Kohlehydrate das Material für die Fettbildung abgeben“ (p. 272). Außerdem aber ist es offensichtlich, daß die Frage nach der Quelle der Fettproduktion mit derjenigen nach der Fettnatur unserer Granula eigentlich nichts zu tun hat.

Wir sehen also, daß die Einwände von **Růžička** zum Teil auf etwas ungenauer Einsicht in meine und seine eigene Arbeit beruhen, zum Teil aber der Kritik und dem Experiment nicht standzuhalten vermögen, und so will ich denn weiterhin in guter Gesellschaft von **Artur Meyer**

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

und seiner Schule, von A. Zettnow, Preisz, sowie von Dietrich, der neuerdings seine Ansicht von den Sauerstoffüberträgern zugunsten der Fetttheorie fallen gelassen hat, an der Fettnatur der „Granula“ festhalten, und meine auch fernerhin, daß die Bezeichnung „Sporoidkörper“ unzulässig, weil irrig ist, und natürlich ebenso alle darauf basierten biologischen Spekulationen unhaltbar sind.

Krakau, 20. Mai 1909.

Literatur.

Dietrich, A., Centralbl. f. allgem. Pathol. u. pathol. Anat. Bd. 19. 1908. No. 1. p. 3—6.
Eisenberg, Ph., diese Zeitschr. Bd. 48. 1908. Heft 3. p. 257—274.
—, Virchows Arch. 1909 (erscheint demnächst).
Höber, R., Pflügers Arch. Bd. 86. 1901. p. 207—209.
Růžička, V., Arch. f. Protistenkunde. Bd. 10. 1907. 247—305.
—, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II. Bd. 23. 1909. No. 10/13. p. 292.
Teague, O. u. Buxton, B. H., Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. 62. p. 304—306.
Unna, P. G., Die Rosaniline und Pararosaniline. (Dermatol. Studien. Heft 4. Hamburg-Leipzig. 1887. p. 21—37.)
Zettnow, E., Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. p. 80, 84.
Tarchetti, Ref. in dieser Zeitschr. Ref. Bd. 35. p. 410.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über das Rhinosklerom.

[Aus dem II. path.-anatomischen Institut (Hofrat Prof. Otto Pertik) und aus der Dermatol. Klinik (Prof. Ludwig Nékám) in Budapest.]

Von
Dr. **Max Goldzieher,** und Dr. **Eduard Neuber,**
I. Assistenten klinischem Praktikanten.

Im Anschluß an bakteriologische und serologische Untersuchungen über den Erreger des Rhinoskleroms waren wir bestrebt, auch die übrigen pathologischen Kenntnisse über die bezeichnete Krankheit möglichst genau zu revidieren. infolgedessen wir uns vornehmlich mit der Histologie, ferner mit der Differenzierung und Klassifizieruug der mit dem Sklerombacillus verwandten Mikroorganismen beschäftigt haben.

Das Rhinosklerom ist als eine Erkrankung der Nase und auch im allgemeinen als Erkrankung der Schleimhaut der oberen Luftwege seit Hebra und Kaposi bekannt. Diese Autoren konnten zwar die von ihnen beobachteten krankhaften Veränderungen noch nicht deuten, indem Hebra die Veränderungen als syphilitische ansah, Kaposi sie aber zu den Geschwülsten zählte, welche in die Klasse der Sarkome gehören.

Das langsame gutartige Wachstum der Geschwulst und die Erfolglosigkeit der antiluetischen Behandlung bewogen Hebra später, mit Rücksicht auf die außerordentliche Härte der Geschwulst und auf das anscheinend spezifische Auftreten derselben in der Nase, ein besonderes Krankheitsbild aufzustellen und es mit dem Namen Rhinoskleroma zu bezeichnen.

Die Feststellung des Wesens des Krankheitsbildes, daß wir nämlich einer Granulationsgeschwulst auf entzündlicher Grundlage gegenüberstehen, verdanken wir in erster Reihe den Untersuchungen von Mikulicz, der den entzündlichen Charakter des Sklerομgewebes erkannte und bereits jene eigentümlichen, blasenförmigen Zellen beschreibt, welche für das Skleromgewebe charakteristisch sind, und welche man nach ihrem Entdecker Mikulicz-Zellen nannte.

Ein neuer wichtiger Fortschritt in der Erkenntnis des Leidens war es, als Frisch im Jahre 1882 zuerst im Rhinoskleromgewebe charakteristische, stäbchenförmige Mikroorganismen beobachtete, und als es ihm gelang, in den von ihm beobachteten 12 Fällen, trotz seines primitiven bakteriologischen Verfahrens, diese Mikroorganismen reinzuzüchten. Kurz darauf bestätigten Pellizari u. a. diesen Befund und stellten auch fest, daß die fraglichen Bacillen hauptsächlich in den Mikulicz-Zellen zahlreich zu finden sind.

Die späteren Untersuchungen lenkten die Aufmerksamkeit besonders nach zwei Richtungen hin; es gab solche, die besonders die histologischen Veränderungen prüften, und diese Seite der Frage kann heute sozusagen als endgültig geklärt betrachtet werden; andere aber schlugen vornehmlich die ätiologische Richtung ein und studierten die Bakteriologie des Skleroms.

Beschäftigen wir uns zuerst mit der Histologie des Rhinoskleroms. Wenn wir Skleromgranulationen untersuchen, so finden wir in erster Reihe, daß das die Oberfläche bedeckende Plattenepithel entweder normal ist, oder aber auch entschiedene entzündliche Verdickung und Tiefenwachstum in der Form unregelmäßiger Stränge und Zapfen aufweisen kann. Solche atypische „Friedländersche“ Epithelwucherungen sehen wir oft beim Sklerom. Andererseits finden wir aber oft auch die Verdünnung des die Granulationen deckenden Epithels, so daß dasselbe stellenweise verloren geht, es entstehen Exulzerationen, und das Granulationsgewebe liegt frei an der Oberfläche.

Diese accessorischen und keineswegs charakteristischen Veränderungen beziehen sich auf das Verhalten des Epithels; der eigentliche Krankheitsprozeß beginnt anscheinend in der Submucosa, wo dann das langsame Wachstum des entzündlichen Gewebes stattfindet, dessen spezifische Eigenart bereits die älteren Autoren durch das Auftreten der Mikulicz-Zellen feststellten.

Als Unna mit der modernen Färbetechnik die Histologie der Entzündungsgewebe revidierte und die hierbei auftretenden Zellarten, namentlich die Plasmazellen beschrieb, gelang es ihm bei seinen Untersuchungen, welche auch das Rhinosklerom umfaßten, festzustellen, daß auch bei diesem Plasmazellen immer reichlich vorhanden sind, und deshalb reihte er das Sklerom unter die von ihm als Plasmome bezeichneten entzündlichen Neubildungen.

Die Plasmazellen, welche schon früheren Autoren aufgefallen waren, die sie unter dem Namen „epitheloider Zellen“ und unter anderen Namen anführen, ohne sie deuten zu können, kommen beim Sklerom in riesigen Mengen vor, oft eng aneinandergereiht, besonders im Verlauf der Blutgefäße, welche sie oft mantelförmig umgeben. Unna leitet die Mikulicz-Zellen von den Plasmazellen ab, aus welchen sie durch die Infizierung mit dem Rhinosklerombacillus und die dadurch eintretende schleimige Degeneration entstehen. Der Einwirkung des Krankheitserregers schrieb Unna auch das Entstehen der unter den Plasmazellen oft zahlreich auftretenden hyalinen Zellen mit homogenem Protoplasma zu, welche schon von den ersten Autoren, namentlich von Pellizari erwähnt wurden.

Unna hatte mit seinen Untersuchungsbefunden die Beschreibung der Zellelemente des Skleromgewebes ungefähr erschöpft, er warf aber damit auch zahlreiche Streitfragen hinsichtlich der Deutung dieser Zellelemente auf. Wir können uns hier auf die umfassendere Frage des bindegewebigen oder hämatogenen Ursprunges der Plasmazellen nicht

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

einlassen, es sind dies noch immer unentschiedene Streitfragen der allgemeinen Histopathologie. Wir haben uns nur speziell mit der Deutung der spezifischen Skleromelemente, d. i. der Mikulicz- und der hyalinen Zellen zu beschäftigen.

In erster Reihe sind es die Untersuchungen von Marschalko, welche diese Gesichtspunkte aufwerfen und deren Klärung bezwecken. Als Resultat der Untersuchungen von Marschalko können wir als feststehend annehmen, daß die Mikulicz-Zellen infolge einer Zelldegeneration gebildet werden, welche durch die die Erkrankung hervorrufenden Mikroorganismen bedingt ist. Der in diesen Zellen massenhaft auftretende Sklerombacillus verwandelt, indem er Schleim produziert, jene Zelle, in welche er gelangt ist, in eine mit Schleim gefüllte Blase, wobei der Zellkern zumeist geschrumpft ist und pyknotisch der Zellmembran angedrängt, exzentrisch in der Zelle liegt.

Bei weniger vorgeschrittener schleimiger Degeneration kann in der Mikulicz-Zelle noch eine feine, netzartige Struktur erkannt werden, welche eine eigenartige metachromatische Färbung aufweist. Während jedoch diese Zellen nach Marschalko und den übrigen gleichzeitigen Untersuchern die Produkte der Veränderung der fixen Bindegewebszellen wären, kann nach den neueren Untersuchungen von Schridde ihr Ursprung richtiger und der älteren Unnaschen Auffassung entsprechend auf die Plasmazellen zurückgeführt werden.

Nach Schridde können die Uebergangsformen zwischen den beiden so verschiedenen Zelltypen direkt beobachtet werden, was ihren genetischen Zusammenhang bestätigt. Ihr Entstehen könnte durch die Einwanderung der Bakterien in die Plasmazellen und deren Mucinproduktion erklärt werden, andererseits könnte dies auch der toxischen Fernwirkung des Sklerombacillus zugeschrieben werden. Hierdurch würde jener mit Recht befremdende Umstand Erklärung finden, daß wir nämlich auf größeren Gebieten dicht beieinander Mikulicz-Zellen finden können, ohne auf dem ganzen Gebiete auch nur einen Bacillus zu sehen.

Sämtliche Autoren stimmen darin überein, daß Sklerombacillen wohl auch außerhalb der Mikulicz-Zellen, frei in den Gewebslücken und Lymphwegen vorkommen, daß sie aber in keinerlei anderen Zellen, namentlich nicht in Leukocyten, nachgewiesen werden können. Die frei sichtbaren Bacillen gelangten nach Marschalko zumeist infolge des Platzens schleimig degenerierter Zellen in das Gewebe.

Außer den massenhaften Plasmazellen und dem spezifischen Vorkommen der Mikulicz-Zellen ist noch das Vorkommen hyaliner Zellen und Schollen von Wichtigkeit. Seit Pellizari, der als erster die hyaline, respektive kolloide Degeneration in den Zellen des Skleromgewebes konstatierte, haben zahlreiche Forscher derart veränderte Zellen beobachtet und beschrieben. Während anfangs ihrem Vorkommen eine spezifische Bedeutung zugeschrieben wurde, sind diese Gebilde neuerdings auch bei andersartigen entzündlichen Affektionen, besonders der Schleimhäute beobachtet.

Nach ihrem Auftreten müssen wir unterscheiden zwischen den freiliegenden, zumeist runden, kugelförmigen Gebilden, welche oft sehr zahlreich zu sehen sind, und jenen, welche intracellulär liegen, oft den größten Teil des betreffenden Zellkörpers in Anspruch nehmen und den Zellkern in eine exzentrische Lage drängen. In einzelnen Zellen sehen wir aber auch zahlreiche kleinere Schollen resp. Körner. Sie sind alle homogen, strukturlos, können mit verschiedenen Färbungen intensiv tingiert werden, besonders zweckmäßig aber mit der Weigertschen Fibrinfärbungsmethode.

Die sorgfältigen Untersuchungen Schriddes haben gezeigt, daß die hyalinen Zellen und Kugeln mit den Plasmazellen in genetischem Zusammenhang stehen. Das beweist ihre auffallende perivaskuläre Lagerung, ferner besonders die Beobachtung der Uebergangsformen, welche wir als kleine hyaline Körner und Granulationen enthaltende Plasmazellen sehen können.

Die hyalin degenerierten Granulationen der Plasmazellen fließen zu einer größeren Scheibe zusammen und füllen mit der Zeit den ganzen Zellinhalt aus, bis schließlich nach Vernichtung der Zelle die freigewordene hyaline Kugel zurückbleibt.

Bei unseren eigenen histologischen Untersuchungen haben wir anläßlich des Studiums der charakteristischen Zellen- und Formelemente des Skleroms solche Befunde erhoben, welche mit den Resultaten Schriddes ganz übereinstimmen. Wir hatten hauptsächlich hinsichtlich der Mikulicz-Zellen Gelegenheit, zahlreiche Uebergangsformen zu sehen, welche das Entstehen dieser Zellen aus Plasmazellen beweisen.

Wir wendeten unsere Aufmerksamkeit in höherem Maße auch dem Stroma des skleromatösen Gewebes zu, dessen Untersuchung von den meisten Autoren mehr vernachlässigt wurde, obwohl gerade die Art dieses Stromas dem Skleromgewebe jene knorpelartige Härte verleiht, welche eben zu der Benennung: „Skleroma“ Veranlassung gegeben hat.

Während das frische Granulationsgewebe zumeist nur von netzartigen, dünnen und feinen Bindegewebsfasern durchdrungen ist, finden wir in älteren Granulationen viel breitere, derbere Fasern und Bündel, welche oft homogen und hyalinartig sind und nach van Gieson intensiv rot gefärbt werden.

Das Entstehen und die Bedeutung des interstitiellen Kollagengewebes ist zweifellos als sekundär zu betrachten. Während die ganz frischen Granulationen weich, nahezu medullär sind, und dementsprechend nahezu ganz aus Lymphocyten und Plasmazellen bestehen, finden wir in den älteren Granulationen, in welchen die Mikulicz-Zellen auch in größeren Mengen enthalten sind, die narbige, kallöse Hypertrophie des Bindegewebes.

Wir müssen jedoch bemerken, daß selbst in den dichtesten Plasmazelleninfiltraten ein wenn auch großmaschiges Fibrillennetz vorhanden ist.

Wir untersuchten besonders sorgfältig das Skleromgewebe auf seinen Gehalt an elastischen Fasern. Diesbezüglich fanden wir auch bei Marschalko eine Bemerkung, nach welcher die elastischen Fasern im allgemeinen, besonders aber in den narbigen Teilen stark vermehrt wären, auf den plasmatischen Gebieten aber seltener vorkämen, eventuell sogar ganz verschwinden. Unsere Untersuchungen bestätigten dies vollkommen; es ist zweifellos, daß bei der Bildung des bekannten knorpelharten Granulationsgewebes eine bedeutende Neubildung elastischer Fasern mitverantwortlich ist.

Aetiologie. Nach kurzer Würdigung der Histologie des Skleroms wollen wir auf die Erörterung der Aetiologie übergehen. Da die ersten Beschreiber des Krankheitsbildes, Hebra und Kaposi, die Veränderung irrig deuteten, und auch Mikulicz diesbezüglich noch keine Aufklärung gebracht hatte, beginnen die Kenntnisse über die Entstehung des Skleroms erst mit Frisch, der bei der Untersuchung von 12 Skleromfällen im Gewebe, besonders aber in den Mikulicz-Zellen die charakteristischen Bacillen fand, welche er auch, als erster, reinzuzüchten vermochte. Spätere Forscher, namentlich Pellizari, Paltauf und Eiselsberg, Dittrich und Babes, bestätigen den Befund Frischs hinsichtlich des Vorkommens von Bacillen, ihre Auffassung aber über deren ätiologische Bedeutung und Wichtigkeit war nicht dieselbe.

Während einige Autoren den gesonderten spezifischen Charakter des Bacillus Frisch als bewiesen erachteten, identifizierten andere denselben mit dem morphologisch und kulturell nahezu vollkommen übereinstimmenden Friedländerschen Pneumobacillus. Einzelne betonten wieder, unter diesen auch Paltauf in seinem neueren Werke, die nahe Verwandtschaft der beiden Bakterien, identifizierten dieselben aber keineswegs und stellten sogar einige gewisse ständige kulturelle Unterschiede fest.

Die ätiologische Bedeutung und bakteriologische Zugehörigkeit des Bacterium rhinoscleromatis Frisch wäre daher jene Frage, welche schließlich infolge der widersprechenden Ansichten der Forscher zu lösen bleibt, eine Frage, die gleichzeitig mit der der Differenzierung der Kapselbacillengruppe zusammenfällt.

Die von Fricke stammende Bezeichnung Bacillus mucosus capsulatus kommt einer ganzen Bakteriengruppe zu, deren Zusammengehörigkeit durch zahlreiche ständige Eigenschaften bewiesen ist. Außer der gemeinsamen Eigenschaft der Kapselbildung charakterisiert sie die plumpe, polymorphe Stäbchengestalt, die fehlende Sporenbildung, sowie die vollkommen mangelnde Bewegungsfähigkeit, die gramnegative Färbung und schließlich das charakteristische Wachstum auf Nährböden in der Form reicher, schleimiger Auflagerungen. Auf Gelatine gezüchtet, wird diese nicht verflüssigt.

Der Hauptvertreter dieser Gruppe und zugleich einer der verbreitetsten Bakterien ist der Bacillus pneumoniae Friedländer, den wir oft als Erreger von Entzündungen in der Lunge erkennen, der aber auch als Erreger verschiedener Eiterungen oder auch als unschädlicher Saprophyt vorkommen kann.

Weitere Vertreter dieser Gruppe sind der Bacillus aërogenes lactis Escherich, welcher hauptsächlich aus dem Kot von Säuglingen oder aus dem Urin bei Blasenkatarrhen gezüchtet werden kann, ferner der bei Ozaena vorkommende Bacillus ozaenae Abel und schließlich der Bacillus rhinoscleromatis Frisch.

Die Frage des Verhältnisses dieser Bakterien zueinander festzustellen, wurde zuerst durch Züchtungsversuche zu klären getrachtet, indem man die verschiedenen Arten der Kapselbacillen, namentlich die Bacillen der Pneumonie, der Ozaena, des Rhinoskleroms und den Bacillus aërogenes lactis in bezug auf ihr Wachstum auf Nährböden, auf ihre biologisch-chemischen Eigenschaften sowie auf ihre Pathogenität miteinander verglich.

Diese Verhältnisse wurden durch die gründlichen Arbeiten von Wilde und besonders von Clairmont vollkommen geklärt, die übereinstimmen, daß sämtliche Mitglieder der Gruppe sehr reichlich auf den verschiedenartig zusammengesetzten Agarnährböden (Serum, Glyzerin etc.) wachsen. Die Kolonieen sind auf schiefem Agar opak, grau oder von hellgelber Farbe, spiegelnd und weisen zumeist einen scharfen, welligen Rand auf, im Stichkanal entwickeln sie sich in der Form eines ähnlichen grauen, einförmigen Bandes. Eine nicht ständige Eigenschaft der einzelnen Stämme ist die Erhebung über die Oberfläche, welche sehr verschieden sein kann, ebenso veränderlich ist auch ihre Konsistenz, indem die Kulturen oft nahezu zerfließen, auf schiefem Agar nur einen dünnen Ueberzug bildend und in das Kondenswasser fließend; in anderen Fällen wieder sind sie dermaßen konsistent und zäh, daß sie mit der Platinöse nur schwer abgeschabt werden können.

Sehr charakteristisch ist ihr Verhalten unter dem Mikroskop. Einzelne Stämme weisen in ihren Kulturen ein homogenes, bräunliches Zentrum auf mit hellerer Peripherie, an welcher wir am äußersten Rande eine klar sichtbare Körnung erkennen, wogegen die runden Kolonieen mit ganz scharfem Rande abschneiden. Ein anderer Typus ist in der Mitte dunkelbraun, undurchsichtig, an der Peripherie wird die Kolonie aber mit einem plötzlichen Uebergang farblos und durchsichtig, der Rand ist sehr fein gezahnt. Nach Clairmont kommt der erste Typus vornehmlich dem Bacillus aërogenes lactis zu.

Das Wachstum auf Gelatinekulturen ist bei allen Mitgliedern der Gruppe ein identisches.

Charakteristisch ist die Auflagerung über dem Stichkanal, welche der Kultur das Aussehen eines Nagels verleiht (Nagelkulturen). Die Gelatine wird nicht flüssig, in alten Kulturen wird jedoch die Gelatine leicht gebräunt.

Die Bouillonkulturen, welche im allgemeinen nicht charakteristisch sind, weisen nach den Angaben der Autoren eine gleichmäßige Trübung auf, was mit unseren eigenen Beobachtungen nicht vollständig übereinstimmt. Wir fanden nämlich, daß die Bouillon des Friedländerschen Bacillus sich rascher und intensiver trübte als die des Rhinosklerombacillus und daß im Gegensatz zu jener die vom Friedländerschen Bacillus verursachte Trübung auch durch Zentrifugierung nicht vollständig behoben werden konnte. Gewöhnlich bleibt eine schwach opaleszierende weißliche Trübung zurück. Der Vergleich darf natürlich nur mit gleichalterigen, am besten 24-stündigen Kulturen vorgenommen werden. Die an der Oberfläche der Kultur schon in 24 Stunden entstehende und in 48 Stunden sich verdickende schleimige Membran ist bei den verschiedenen Stämmen meist ganz gleichartig.

Kartoffelkulturen sind nach keiner Richtung hin charakteristisch; alle Stämme weisen bei diesen das Bild von reichlichen, schleimigen Auflagerungen auf, welche später eventuell eine bräunliche Farbe annehmen. Weder in dieser Beziehung noch in der manchmal zur Beobachtung gelangenden Gasentwickelung ist eine Abweichung von der Norm konstatierbar. Zur Differentialdiagnose geeignet schien eine Zeitlang das verschiedene Verhalten der Kapselbakterien zur Milchgerinnung, was von Paltauf, Löwenberg und Wilde beschrieben wurde.

Spätere Untersuchungen von Fricke, Denys, Martin und De Simoni bewiesen, daß die Einwirkung auf die Gerinnung der Milch bei verschiedenen Stämmen in verschiedenem Maße, ja sogar in verschiedener Weise vorhanden ist und, wie die Versuche von Clairmont beweisen, ist es nur der Bacillus aërogenes lactis, welcher ständig Milchgerinnung herbeiführt. Als ein zweifelhaftes diagnostisches Hilfsmittel erwies sich auch die Prüfung der Säurebildung auf Lackmus- und zuckerhaltigen Nährböden.

Nach den Angaben der Literatur scheint, wenn auch nicht mit gesetzmäßiger Konstanz, der Sklerombacillus intensiver Säure zu bilden als die übrigen Mitglieder der Gruppe. Das Zersetzen der zuckerhaltigen Nährböden und die damit verbundene Gasbildung weist dagegen keinerlei Beständigkeit auf. Indolbildung haben wir bei einzelnen Mitgliedern der Gruppe nur ausnahmsweise gefunden.

Als wichtige bakteriologische Methode wurde beim Studium der Kapselbakterien auch der Tierversuch herbeigezogen, um die Pathogenität der betreffenden Mikroorganismen an verschiedenen Versuchstieren festzustellen. Es lassen sich nun aber beim Tierversuche zwei Gesichtspunkte in bezug auf die Pathogenität vor Augen halten: Erstens, ob die betreffenden Bakterien in den Tieren gleiche spezifische Veränderungen, Erkrankungen hervorrufen wie beim Menschen (z. B. die Bacillen der Tuberkulose, des Anthrax u. a.), zweitens, ob die Bacillen eine unter dem Bilde der Septikämie rasch verlaufende oder durch eventuell freiwerdende Toxine tödliche Erkrankung verursachen.

Es wurden schon zahlreiche Tierversuche nach diesen Richtungen hin unternommen, besonders an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen, ohne daß es gelungen wäre, auf diesem Wege bestimmte Gesetzmäßigkeiten festzustellen. Es konnte nur konstatiert werden, was auch die Untersuchungen von Clairmont beweisen, daß von den Kapselbakterien in entschiedener Weise und am ständigsten der Bacillus Friedländer bei Mäusen und Meerschweinchen Septikämie verursacht, während er bei Kaninchen kaum pathogen ist. Demgegenüber ist die Pathogenität des Sklerombacillus viel geringer, und selbst tödliche Impfungen verursachen den Exitus nicht durch Septikämie, sondern durch Produktion giftiger Proteine. Dieser von Clairmont aufgestellte Unterschied ist aber keineswegs gesetzmäßig. Nach unseren eigenen Untersuchungen ist hauptsächlich letzterer Punkt nicht zutreffend, indem bei intravenöser Einspritzung von Sklerombacillen bei Kaninchen der Tod an Septikämie herbeigeführt und der Sklerombacillus aus dem Herzblute des Tieres in Reinkulturen erhalten werden konnte.

Was die andere Art des Tierversuches betrifft, nämlich die bei Tieren spezifische lokale Veränderung herbeizuführen, so kann von den Mitgliedern der Gruppe nur der Sklerombacillus in Betracht kommen. Nach dieser Richtung hin wurden auch schon zahlreiche Versuche vorgenommen, aber zumeist vollkommen erfolglos. Kaposi, Wolkowitsch, Rydygier, Paltauf versuchten vergeblich Sklerom auf Kaninchen, Meerschweinchen, Hunde zu übertragen, und Pick versuchte sogar vergeblich Menschen mit dem Sklerombacillus zu infizieren. Der erste, der über gelungene Tierversuche zu berichten wußte, war Stepanow, der in die vordere Augenkammer von Meerschweinchen impfte und angeblich von 64 geimpften Augen 7mal charakteristische Granulombildungen nachweisen und gleichzeitig aus den betreffenden Augen auch den Sklerombacillus züchten konnte. In zwei späteren Arbeiten äußert sich Stepanow etwas unsicherer über den spezifischen Charakter der intraokulären Veränderungen. Als ganz wertlos können die Befunde von Pawlowsky bezeichnet werden, dem es angeblich gelungen war, 48 Stunden nach der Infektion in den Nieren und in der Milz des Versuchstieres spezifische Veränderungen festzustellen. Unsere eigenen Untersuchungen in dieser Richtung hatten ein negatives Resultat. Wir haben die Auslösung des lokalen Prozesses in verschiedener Weise versucht. Wir arbeiteten mit Kaninchen und Meerschweinchen, deren Infizierung wir zum Teil auf der Nasenschleimhaut versuchten, zum Teil aber impften wir subkutan, intramuskulär oder auch in die vordere Augenkammer.

Wir nahmen die Versuche mit 24-stündigen Agarkulturen vor, doch versuchten wir ferner auch die Implantierung frischer Skleromgranulationen, welche wir unter die Rückenhaut und in die Muskulatur der Tiere nähten oder aber auf die Nasenschleimhaut verpflanzten. In die vordere Augenkammer haben wir aus technischen Gründen nur die Einführung von Bakterienemulsionen vorgenommen.

Alle diese in großer Zahl vorgenommenen Versuche blieben vollkommen resultatlos und sprechen mit großer Wahrscheinlichkeit dafür, daß das Rhinosklerom als lokale Erkrankung mit seinen spezifischen Veränderungen an Tieren nicht hervorgerufen werden kann. Auch die implantierten skleromatösen Gewebsstücke haften nicht, sondern werden als Fremdkörper durch reaktive Entzündung binnen wenigen Wochen vollkommen aufgesaugt und hinterlassen eventuell eine umschriebene Narbe.

Wir sahen, daß die bakteriologische Methodik: Die Züchtung auf Nährböden und der Tierversuch keine solchen Momente ergaben, welche zur Differenzierung der Kapselbakterien geeignet wären. Die geringen Kulturunterschiede des Sklerombacillus, namentlich gegenüber dem Bacillus Friedländer, und besonders das negative Resultat der Tierversuche hat dabei in einem gewissen Maße das Vertrauen zu der Spezifität desselben erschüttert. Einige neuere Autoren, wie Secchi, Mazza, Ducrey, besonders aber De Simoni betrachten den fraglichen Bacillus, weil derselbe auch im normalen, besonders aber im katarrhalischen Nasenschleim ständig vorkommt, als unschädlichen Saprophyten und als unbedeutende Varietät des Bacillus Friedländer, sie sprechen ihm jede ätiologische Bedeutung ab und leugnen jeden Zusammenhang zwischen dem Bacillus und dem Entstehen des Rhinoskleroms.

Zur Entscheidung dieser Frage, d. h. zur Differenzierung des Sklerombacillus versuchte man schon früher die Anwendung der feineren und empfindlicheren serologischen Methoden, mit deren Hilfe seit den Entdeckungen von Gruber und Durham auch die Differenzierung solcher morphologisch und kulturell identisch scheinender Bakterien gelungen ist, bei welchen, wie z. B. bei den Vibrionen, die bakteriologische Methodik gleichfalls versagt hatte.

Die ersten einschlägigen Versuche bestanden aus der aktiven Immunisierung mit Kapselbakterien und aus der Untersuchung der erreichbaren Schutzwirkung. Versuche von Fasching und später von Pfeiffer blieben resultatlos, die Versuche Löwenbergs aber, der die Differenzierung des Ozaenabacillus vom Friedländerschen Bacillus anstrebte, haben eine gewisse Schutzwirkung bei den aktiv immunisierten Individuen ergeben, welche in einem gewissen Grade als spezifisch erschien. Die Wiederholung seiner ersten Versuche an den angeblich immunisierten Tieren ergab den Exitus derselben, was den Wert seiner Resultate zumindest fraglich erscheinen läßt.

Wilde konnte bei Meerschweinchen, welche mit der tödlichen Dosis infiziert wurden, passive Schutzwirkungen durch die Anwendung von Serum solcher Kaninchen erzielen, welche längere Zeit hindurch mit Sklerombacillen behandelt waren. Wichtiger sind jedoch jene Untersuchungen, welche bei der Immunisierung mit Kapselbacillen den Nachweis von eventuell im Serum auftretenden Agglutininen bezwecken. Kraus und später Landsteiner referierten über ihre diesbezüglichen Versuche, welche namentlich nach dem letztgenannten Autor ergaben, daß das Serum immunisierter Tiere selbst unverdünnt keine ständige Agglutination herbeiführt und daß diese auch im positiven Fall keine sehr deutliche ist. Clairmont beschäftigt sich in seiner erwähnten Arbeit mit den Fragen der Agglutination und Immunisierung; während er nun hinsichtlich der Schutzwirkung und des diagnostischen Wertes des Pfeifferschen Versuches verneinend antwortet, kommt er in seinen Agglutinationsversuchen zu dem Schlusse, daß nur ein Teil der Kapselbakterien Agglutinine bildet und daß diese nur in ziemlich konzentriertem

Zustande wirksam sind, und zwar sowohl gegen die homologen wie auch gegen die heterologen Stämme. Spätere Untersuchungen führten zu der Annahme, daß es bei den Kapselbakterien keine eigentliche Agglutination gäbe, was auf das Unterbleiben der Agglutininbildung in den immunisierten Tieren zurückgeführt wurde. Dann bewies aber Porges das Irrige dieser Ansicht, indem er zeigte, daß nicht der Mangel des Immunserums an Agglutininen das Unterbleiben der Agglutination verursacht, sondern daß hierbei die Inagglutinabilität der Kapselbakterien Schuld trägt, was übrigens bereits Paltauf gefolgert hatte. Die aus Nukleoproteiden bestehende schleimige Kapsel der Kapselbakterien verhindert die Wirkung der Agglutinine und die Vernichtung der Kapsel ermöglicht tatsächlich das Eintreten der Agglutination. Bei Erhitzung auf 100° in saurem Medium tritt nach längerer Einwirkung der hydrolytische Zerfall der schleimigen Kapseln ein und bei dermaßen vorbereiteten Bakterienemulsionen tritt, wie Porges zeigte, die Agglutination mit Immunsera auch bei höheren Verdünnungen ein. Mit Hilfe der hydrolytischen Präparierung der Bakterienstämme versuchten Eisler und Porges nunmehr auch differentialdiagnostische Untersuchungen anzustellen, als deren Resultat sie wesentliche Unterschiede bei den zur Agglutination der verschiedenen Bakterienarten notwendigen Immunserumverdünnungen, d. i. im Titergrade derselben nachwiesen.

Nach diesen Untersuchungen sollen die Ozaena-, Sklerom- und Friedländer-Bacillen mit ihrem eigenen Immunserum auch bei starken Verdünnungen Agglutination aufweisen, mit heterologem Serum aber bekommen wir nur bei geringer Verdünnung eine schwache Agglutination.

Aehnliche Resultate erhielten die Autoren bei Präzipitationsversuchen, indem die Immunsera in den Bakterienfiltraten Präzipitation, d. h. Trübung verursachten, deren Grad sich als spezifisch zeigte.

Was den Wert der Agglutinationsversuche betrifft, so wird derselbe durch die Art der Vorbehandlung der Bakterien wesentlich herabgesetzt, da wir dieselbe schon a priori nicht als für die Bakterien selber gleichgültig betrachten können.

Porges und Eisler mußten selbst zugeben, daß die Resultate ihrer komplizierten Methode nicht ständig sind und oft gewisse Schwankungen aufweisen. Diese Schwankungen sind namentlich bezüglich des Immunserumtiters so groß, daß deshalb nach Bertarelli das Agglutinationsverfahren zur Differentialdiagnose ungeeignet erscheint. Auch Streit, der sich mit dieser Frage in einer sehr gründlichen Arbeit beschäftigt, gelangt zu dem Resultate, daß wir die Agglutinabilität der Kapselbakterien auch durch Züchtungsverfahren erzielen können, nämlich durch Züchtung auf Agar-Kartoffelnährboden bei niedriger Temperatur. Der in dieser Weise gezüchtete Friedländer- oder Sklerombacillus wird verhältnismäßig leicht agglutiniert, gleich den nach Porges behandelten Bacillen. Das Verfahren wäre aber deshalb geeigneter als das von Porges, weil bei letzterem nahezu immer Pseudoagglutination sowie Agglutination auch durch Normalsera beobachtet werden kann, wogegen dies bei den Kartoffelkulturen nach Streit in geringerem Maße der Fall ist. Es kann demnach festgestellt werden, daß das Verfahren von Porges anscheinend unverläßlich ist, mit den nach Streit gezüchteten Kulturen aber ein verwendbares Resultat ebenfalls nicht erzielbar ist. Das gegenseitige Verhältnis des Friedländer- und Sklerombacillus betreffend, konstatiert Streit nämlich, ohne eine entscheidende Auffassung daraus abzuleiten, daß die Friedländer- und

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Skleromimmunsera nicht nur die homologen, sondern auch heterologe Stämme ganz gleichmäßig agglutinieren.

Neuartige Untersuchungen stellte noch Erben an, der auf Grundlage der Bailschen Aggressintheorie das Studium der Frage unternahm. Indem er Meerschweinchen mit sehr virulenten Sklerom- resp. Friedländer-Stämmen intraperitoneal infizierte, das Exsudat zentrifugierte und mit Toluol behandelte, so daß es sich als steril erwies, stellte er sich wirksame „Aggressine“ her. Ein solches steriles Exsudat, welches mit einer kleinen, nicht letalen Dosis des fraglichen Bacillus injiziert wurde, vernichtete das Versuchstier. Der Aggressincharakter der Exsudate bezog sich aber in gleicher Weise auf heterologe Stämme, woraus Erben die nahe Verwandtschaft des Friedländer- und des Sklerombacillus folgert. Auch jene aktive Immunität, welche er durch die Behandlung mittels Friedländer- resp. Skleromaggressin erzielen konnte, war gleichfalls gegen beide Bakterienarten gleichmäßig vorhanden.

Wir können uns mit der eingehenderen Würdigung der jedenfalls sehr wertvollen Untersuchungen Erbens nicht weiter beschäftigen, in Anbetracht der als Grundlage dienenden und zumindest noch strittigen Aggressintheorie, auch würde die Erörterung dieser Frage den Rahmen dieser Arbeit weit überschreiten. Wir beschränken uns daher nur auf die Registrierung der Befunde Erbens.

Da die erwähnten Untersuchungen alle zu keinem Erfolge in der Differenzierung der Kapselbacillen geführt haben, war es nun der Zweck unserer Arbeiten, ein geeigneteres, einfaches und zuverlässiges Verfahren zu finden, durch welches Resultate zu erreichen wären.

Nach vergeblichen Agglutinationsversuchen beschlossen wir, die jüngste Methode der serologischen Technik, nämlich die Komplementfixation anzuwenden, welches Verfahren doch als ein ungemein empfindliches bekannt ist.

Das Bordet-Gengousche Phänomen, welches seine zumeist verbreitete Anwendung praktisch bei der Wassermannschen Syphilisreaktion gefunden hat, wurde bereits zur Identifizierung zahlreicher Bakterienarten, namentlich der Bakterien des Typhus, der Dysenterie, der Tuberkulose und anderer und laut einer jüngst erschienenen Mitteilung auch zur Differenzierung von Kapselbakterien benutzt.

Ballner und Reibmayer nahmen mit Immunserum, welches sie durch Injektionen von Friedländer-Bacillen in Kaninchen gewannen, Komplementfixationsversuche vor. Sie brachten aus verschiedenen Kapselbakterien hergestellte Extrakte mit dem Friedländer-Immunserum zusammen, und es gelang ihnen tatsächlich, Komplementfixation zu erzielen, die aber ebenso bei Friedländer-Extrakten, wie auch bei Anwendung anderer Extrakte dieser Bakteriengruppe auftrat. Ein Unterschied zeigte sich nur darin, daß Komplementfixation mit den Friedländer-Stämmen auch bei höheren Serumverdünnungen zu erzielen war, während bei Anwendung anderer Bakterienextrakte ähnliche Verdünnungen keine vollständige Komplementbindung mehr gaben. Hieraus würde nun folgen, daß die fragliche Methode zur Differenzierung der Kapselbakterien ungeeignet ist, was aus den weiteren Untersuchungen von Ballner und Reibmayer noch ausdrücklicher hervorgeht. Diese Autoren arbeiteten nämlich auch mit heterologen (Staphylococcus) Immunsera, resp. auch mit aus anderen Bakterienarten angefertigten Extrakten und konnten bei deren Anwendung gleichfalls Komplementfixation nachweisen.

Wie weit diesen Resultaten nun eine Beweiskraft zukommt, welche gegen den spezifischen Charakter der ganzen Bordet-Gengou-Reaktion sprechen und die Verwendung derselben auch im vorliegenden Falle für unzweckmäßig hinstellen würde, zeigen unsere vollkommen widersprechenden, positiven Resultate.

Unsere eigenen Untersuchungen setzten vor allem auf einer anderen Grundlage ein. Nachdem wir unseren ersten Skleromstamm (N.) aus der Nase eines Rhinoskleromkranken gezüchtet hatten, der die Klinik des Herrn Prof. Nékám aufgesucht hatte, versuchten wir vor allem, mit Hilfe eines Extraktes aus diesem Stamm ein Resultat zu erzielen. Zwei andere Skleromstämme (M. und P.) war das unter der Leitung des Prof. Preisz stehende bakteriologische Institut so freundlich, uns zu überlassen. Anstatt eines Immunserums benützten wir vorerst das Blutserum unseres Kranken, was den sofortigen und bequemen Beginn der Versuche gestattete, gleichzeitig Hoffnung verhieß für die Entscheidung jener Frage, ob bei einer solchen lokalen Schleimhauterkrankung, wie es das Rhinosklerom ist, im Blute des betreffenden kranken Individuums Antikörper in nachweisbaren Mengen entstehen.

Gleichzeitig hofften wir, damit auch über die ätiologische Rolle des Sklerombacillus Aufklärung zu erhalten. Unsere Untersuchungen bezogen sich zum Vergleiche auch auf einen anderen Vertreter der Kapselbakteriengruppe, auf den Friedländerschen Bacillus, den wir aus einer gelatinösen Pneumonie gezüchtet hatten.

Wir nahmen die Komplementfixationsversuche mit derselben Technik vor, mit welcher im Berliner Institut für Infektionskrankheiten bei Wassermann die nach ihm benannte Luesreaktion vorgenommen wird.

Wir benutzten von jedem der zu untersuchenden Bakterienstämme zwei verschiedene Präparate. Zum Teil verwendeten wir eine mit Kochsalzlösung hergestellte Emulsion der durch 1-stündige Erhitzung auf 80° abgetöteten Bakterien, im Sinne des Bordet-Gengouschen Originalversuches, und zwar in einer Verdünnung, bei welcher je 0,1 ccm ca. 1 mg Bakteriensubstanz enthielt. Andererseits haben wir, Wassermanns Anschauungen entsprechend, der den Gebrauch von Bakterienextrakten als vorteilhafter und feiner betrachtet, aus allen unseren Stämmen entsprechende Extrakte angefertigt. Wir haben die von Agarplatten gewonnenen Kulturen mit Kochsalzlösung abgespült, bei 80° 1 Stunde lang erwärmt, und die derart abgetöteten Bakterien bei Zimmertemperatur 48 Stunden hindurch in der Schüttelmaschine geschüttelt. Die Zentrifugierung derart angefertigter Emulsionen lieferte ein schwach weißlich gefärbtes, ein wenig opalisierendes Extrakt, welches wir, gleich den Bakterienemulsionen, genau titrierten.

Als Titer nahmen wir jene größte Menge des untersuchten Präparates an, welche weder mit normalem Blutserum, noch mit anderen, heterologen Immunsera Komplementbildungen gab. Bei unseren Versuchen diente die Hälfte des Titers als Gebrauchsdosis des Antigens.

Das Protokoll eines solchen Titrierungsversuches ist nachfolgend:

	Extr. Rhin.	Ser. Rhin. 0,2	Normalserum 0,2	Sine sero
1	0,8	c. h.	c. h.	c. h.
2	0,4	dgl.	h.	h.
3	0,2	„	c. l.	c. l.
4	0,1	„	dgl.	dgl.
5	0,05	h.	„	„
6	sine extr.	c. l.	„	„

c. h. = komplette Hemmung, h. = Hemmung, c. l. = komplette Lysis.

Wir benutzten das Serum des Kranken — nachdem wir es bei 66° eine halbe Stunde hindurch inaktivierten — als Antikörper enthaltendes Immunserum, und zwar in der Dosis von 0,2 ccm. Als Komplement diente das frische Blutserum von Meerschweinchen in der Menge von 0,1 ccm. Das als Indikator dienende hämolytische System bestand aus Hammelblutkörperchen und Hämolysin, welches wir durch wiederholte Infektionen von Hammelblutkörperchen in Kaninchen gewonnen hatten. Das Hämolysin wurde in der Verdünnung von 400:1 benutzt.

Die auf je 1 ccm mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnten Gebrauchsmengen des Komplements, des Blutserums und eines der nach den oben angegebenen 2 Methoden hergestellten und titrierten Antigene, insgesamt daher 3 ccm, kamen zusammengemischt für eine halbe Stunde in den Thermostaten bei einer Temperatur von 37°, damit dort die Reaktion der Komplementfixation vor sich gehe. Nachdem wir sodann je 1 ccm des Hämolysins und der 5-proz. Hammelblutaufschwemmung hinzufügten, setzten wir die so beschickten Röhrchen neuerlich für 2 Stunden der Temperatur des Thermostaten aus, stellten das Resultat der Reaktion aber erst nach der darauf folgenden 20-stündigen Klärung im Eisschranke fest.

Diese Versuche, welche wir öfters wiederholten, haben uns überzeugt, daß das Blutserum eines an Rhinosklerom Leidenden in Anwesenheit einer aus Sklerombacillen angefertigten Emulsion oder Extraktes Komplementfixation ergibt, so daß das als Indikator zugefügte hämolytische System keine Lösung der Blutkörperchen aufwies.

Die Hemmung der Hämolyse, d. i. die Komplementfixation, wurde vom Blutserum des Kranken gegenüber dem aus unserem eigenen Fall gezüchteten Sklerombacillus ebenso ausgeübt, wie gegenüber den Skleromstämmen des Herrn Prof. Preisz.

Wie das folgende Versuchsprotokoll zeigt, haben wir entsprechende Kontrollversuche gemacht. Wir kontrollierten ständig die eigene Hämolyse hemmende Wirkung des Antigens, sowie jene, welche es eventuell in Anwesenheit von normalem Serum entfalten könnte. Gleichzeitig wurden auch ständig Kontrollversuche angestellt, mit paralleler Verwendung von Friedländer-Bacillenaufschwemmungen und Extrakten.

Diese Versuche zeigten nun, daß vor allem die eigene, hemmende Wirkung des Antigens auszuschließen war, ferner konnten wir die beim Normalblutserum und bei sämtlichen Friedländer-Kontrollen eintretende komplette Hämolyse feststellen.

	Extractum	Ser. Rhin.	Normalserum	Sine sero
1	Rhin. N. 0,15	c. h.	c. l.	c. l.
2	Rhin. P. 0,15	dgl.	dgl.	dgl.
3	Rhin. M. 0,15	h.	"	"
4	Friedl. 0,15	c. l.	"	"
5	Sine extracto	dgl.	"	"

Emulsio	Ser. Rhin. 0,2	Normalserum 0,2	Sine sero
Rhin. N. 0,025	c. h.	c. l.	c. l.
Rhin. P. 0,05	dgl.	dgl.	dgl.
Rhin. M. 0,05	h.	"	"
Friedländer 0,05	c. l.	"	"
Sine emulsione	dgl.	"	"

Während der Antigengehalt der Extrakte nicht pünktlich berechnet werden konnte, verfügten wir bei den Emulsionen über genaue Quantitäten.

So enthielten bei diesen Versuchen je 1 ccm der Emulsionen:

Rhin. N. = 7,9 mg
Rhin. P. = 7,9 „
Rhin. M. = 8,0 „
Friedländer = 10,5 „

In der Gebrauchsdosis waren daher enthalten:

Rhin. N. = 0,395 mg
Rhin. P. = 0,395 „
Rhin. M. = 0,400 „
Friedländer = 0,525 „

Zur Auslösung der Reaktion genügte daher schon eine sehr geringe Menge Bakterienleibessubstanz, was jedenfalls die Feinheit, Empfindlichkeit und den spezifischen Charakter derselben beweist.

Absichtlich verwendeten wir die Bacillus Friedländer-Emulsion in stärkerer Konzentration, wobei wir trotzdem keine Hemmung der Hämolyse erhielten.

Bevor wir die Konsequenzen aus diesem Versuchsergebnis ableiteten, hielten wir die Wiederholung ähnlicher Versuche über das Verhalten künstlicher Immunsera für notwendig, nachdem schon die bisherigen Resultate den negativen Versuchsergebnissen Ballners und Reibmayrs widersprachen.

Wir stellten unsere Immunsera durch intravenöse Einspritzung lebender Bouillonkulturen in Kaninchen her, indem wir mit jedem unserer Sklerom- und Friedländer-Stämme mehrere Kaninchen in Intervallen von je 8 Tagen 3mal behandelten. Wir töteten die Tiere, deren größerer Teil die Einspritzung von 1 ccm Bakterien-Kochsalzemulsion ertrug, am 32. Tage, wodurch wir nun in ihrem inaktivierten Serum viererlei Immunsera besaßen, nämlich drei Sklerom- und ein Friedländer-Serum. Mit diesen Immunsera wiederholten wir nun unsere früheren Versuche, und zwar mit gleicher Untersuchungsmethodik. Unsere Ergebnisse waren vollkommen entsprechend: Die Skleromsera gaben mit den aus Skleromstämmen angefertigten Antigenen vollkommene Komplementfixation, so daß nach Hinzufügung des als Indikator dienenden Hämolysins und Hammelblutes keine Lösung eintrat, sämtliche Kontrollröhrchen aber, sowie die Friedländer-Antigen enthaltenden vollständige Hämolyse zeigten. Das Friedländer-Serum wieder konnte mit den Skleromstämmen keine Komplementfixation erzielen, während es mit seinem eigenen homologen Extrakte das Komplement band. Diese wiederholt vorgenommenen und immer gleichlautenden Versuche illustriert z. B. das nachstehende Versuchsprotokoll:

	Extrakt 0,1	Ser. Rhin. N. 0,2	Ser. Friedländer 0,2	Normalserum 0,2	Sine sero
1	Rhin. N.	c. h	c. l.	c. l.	c. l.
2	Rhin. P.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
3	Rhin. M.	h.	„	„	„
4	Friedländer	c. l.	c. h.	„	„

	Emulsio	Ser. Rhin. N. 0,2	Ser. Friedländer 0,2	Normalserum 0,2	Sine sero
5	Rhin. N.	c. h.	c. l.	c. l.	c. l.
6	Rhin. P.	dgl.	dgl.	dgl.	dgl.
7	Rhin. M.	„	„	„	„
8	Friedländer	c. l.	c. h.	„	„
9	Sine extr. aut emuls.	dgl.	c. l.	„	„

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Diese Versuche gestatteten mit der Beweiskraft von genau durchgeführten biologischen Reaktionen folgende Schlüsse:

1) Zur Differenzierung des Bacterium Friedländer und des Bacterium scleromatis, d. i. zur Differenzierung der Kapselbakteriengruppe, ist die Komplementfixationsreaktion ein sehr geeignetes und leicht durchführbares Verfahren.

2) Wir können auf Grund unserer eigenen bisherigen Versuche bereits feststellen, daß der Bacillus rhinoscleromatis Frisch biologisch vom Bacillus pneumoniae Friedländer abweicht.

3) Im Blutserum von Rhinoskleromkranken sind Antikörper gegenüber dem Sklerombacillus in nachweisbarer Menge vorhanden, so daß durch sie die Komplementfixation erzielbar ist als spezifische Reaktion des Sklerombacillus.

4) Diese Antikörper gaben mit dem Friedländer-Bacillus keine Komplementfixation.

5) Im Sinne der letzten zwei Punkte erscheint die ätiologische Rolle des Sklerombacillus beim Entstehen des Rhinoskleroms als bewiesen und es entfällt die Hypothese, daß der Sklerombacillus nur als unschuldiger Saprophyt auf der Nasenschleimhaut vorkomme.

Unsere Untersuchungen beweisen die ätiologische Rolle des Sklerombacillus, sie beweisen ferner auch, daß wir beim Rhinosklerom trotz dessen Charakters als lokale Schleimhauterkrankung einer allgemeinen Infektion gegenüberstehen, bei welcher sich der angegriffene Organismus durch die Produktion von Antikörpern schützt.

Daß das Rhinosklerom tatsächlich eine derartige Infektion ist, beweist trotz seiner strengen Lokalisation der schon früher erhobene Befund, daß die regionären Lymphdrüsen des erkrankten Schleimhautgebietes durch eine entzündliche Reaktion an dem pathologischen Prozeß teilnehmen können. Rona gelang es schon, aus den entzündlich geschwollenen regionären Drüsen den Sklerombacillus in Reinkultur zu züchten.

Wir müssen uns schließlich noch kurz mit den widersprechenden Ergebnissen beschäftigen, welche die Komplementfixationsversuche von Ballner und Reibmayr ergaben.

Als Erklärung der Abweichung können wir auf gewisse technische Unterschiede hinweisen, welche geeignet sein können, bei so minutiösen Untersuchungen einigermaßen verschiedene Ergebnisse herbeizuführen. Diesbezüglich müssen wir auf den Originalartikel verweisen. Als charakteristisch müssen wir allenfalls erwähnen, daß die genannten Autoren, mit heterologen Sera arbeitend, ebenfalls Komplementfixation erzielten, wonach das ganze von vielen hervorragenden Forschern als zweckmäßig befundene Bordet-Wassermannsche Verfahren als unbrauchbar hingestellt würde.

Sehr interessant war für uns auch die im Laufe der Versuche gewonnene Erfahrung über das Verhalten der Antikörper im Serum auf therapeutische Einwirkungen, besonders bei Behandlung mit Röntgenstrahlen.

Unser erster Patient wurde wiederholt von Herrn Universitätsassistenten Dr. Kollarits mit Röntgenstrahlen behandelt, wobei wir die rapide Besserung und später — wir können sagen — Heilung des sehr ausgebreiteten Krankheitsprozesses in der Nase beobachten konnten. Mit der Besserung resp. Heilung des lokalen Krankheitsprozesses konnten wir gleichzeitig die Verminderung und schließlich das vollständige Verschwinden der im Serum enthaltenen spezifischen Stoffe mit Antikörper-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

charakter konstatieren. Mit dem nach eingetretener Heilung entnommenen Serum konnten wir überhaupt keine Komplementbindung mehr erzielen.

Indem wir uns auf die Feststellung dieser Erfahrung beschränken, können wir uns auf ähnliche Beobachtungen in der Literatur berufen, namentlich auf die Mitteilungen Läwens, der eben in dieser Richtung hin Tierversuche vornahm, um die Wirkung der Röntgenstrahlen auf die Bildung von Immunkörpern zu prüfen. Nach seinen Versuchen nehmen die im Blutserum enthaltenen Lysine und Agglutinine an Menge ab oder verschwinden auch vollständig. Die zur geeigneten Zeit vorgenommene Bestrahlung kann die Bildung von Antikörpern überhaupt verhindern.

Nach Abschluß unserer Versuche hatten wir Gelegenheit, noch weitere 8 Fälle diagnostisch auf Sklerom-Komplementfixation zu untersuchen. In 5 Fällen bekamen wir deutlich positives Resultat, was mit dem gleichzeitig erhobenen biologischen Befunde vollkommen übereinstimmte. In 2 anderen Fällen war die Seroreaktion negativ, die histologische Untersuchung zeigte uns aber ebenfalls ein unspezifisch erscheinendes Granulationsgewebe. Die in beiden Fällen angestellte Wassermannsche Syphilisreaktion ergab einen deutlichen positiven Ausfall! Der letzte Fall, mit ebenfalls negativer Seroreaktion, war ein schon längere Zeit mit Röntgen behandeltes Laryngosklerom.

Als Resultat dieser Untersuchungen können wir die Folgerung ableiten, daß zur Sicherstellung der Diagnose des Sklerombacillus und zur Identifizierung des Blutserums von Rhinoskleromkranken der Komplementfixationsversuch ein mit der Wassermannschen Reaktion gleichwertiges Verfahren ist. Es scheint das Verfahren ferner auch zur Identifizierung der übrigen Kapselbakterien, namentlich des Bacillus pneumoniae Friedländer, geeignet, was um so wichtiger ist, da die bisherigen Untersuchungen ebensowenig als unsere eigenen Versuche hinsichtlich des kulturellen, biologischen und pathogenetischen Verhaltens der Sklerom- und Pneumoniebacillen ständige Verschiedenheiten zwischen diesen offenbar naheverwandten Bakterienarten nachweisen konnten.

Literatur.

1) Babes, Kolle-Wassermanns Handbuch.
2) Ballner u. Reibmayr, Münchn. med. Wochenschr. 1907. p. 601.
3) Bertarelli, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 37. p. 338.
4) Clairmont, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 39. 1902.
5) Denys u. Martin, zitiert nach Clairmont.
6) Dittrich, Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. p. 433.
7) Ducrey, Giorn. ital. d. mal. vener. 1892—1893.
8) Erben, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906. p. 370.
9) Eisner u. Porges, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 42.
10) Fasching, Sitzungsber. d. k. Akad. in Wien. 1891.
11) Frisch, Wien. med. Wochenschr. 1882. p. 968.
12) Hebra, Wien. med. Wochenschr. 1870. Bd. 1.
13) Kaposi, Virchows spez. Pathol. u. Therapie. Bd. 3.
14) Kraus, Baumgartens Jahresber. 1892. p. 640.
15) Landsteiner, Wien. klin. Wochenschr. 1897. p. 443.
16) Läwen, Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. 19. 1908. Heft 1.
17) Mazza, zitiert nach de Simoni.
18) Marschalko, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. 53. p. 163.
19) Mikulicz, Das Rhinosklerom. (Arch. f. klin. Chirurg. Bd. 20. Heft 3.)
20) Paltauf u. Eiselsberg, Fortschr. d. Med. 1886. p. 617.
21) Pellizari, Das Rhinosklerom. 1883.
22) Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.
23) Pick, Verein deutscher Aerzte Prag. 26. Okt. 1883.
24) Porges, Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 26.
25) Pawlowsky, X. med. Kongreß in Berlin. 1890.

26) **Rydygier**, v. **Langenbecks** Archiv. Bd. 39.
27) **Secchi**, zitiert nach **de Simoni**.
28) **de Simoni**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 27.
29) **Schridde**, Arch. für Dermatol. u. Syphilis. Bd. 73. p. 107.
30) **Stepanow**, Monatsh. f. Ohrenheilk. 1889; 1893.
31) **Streit**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. p. 709.
32) **Unna**, Histopathologie.
33) **Wilde**, Centralb. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 20. 1896.
34) **Wolkowitsch**, Arch. f. klin. Med. Bd. 38.

Nachdruck verboten.

Serologische Untersuchungen bei der Variola vera.

[Aus dem Duisburger bakteriologischen Laboratorium des Vereins zur Bekämpfung der Volkskrankheiten im Ruhrkohlengebiet.]

Kurze Mitteilung.

Von Dr. **Dahm**, Leiter des Laboratoriums.

Die im Spätsommer vorigen Jahres in Duisburg ausgebrochene kleine Pockenepidemie gab mir Veranlassung und Gelegenheit, einige Untersuchungen über die Wirksamkeit des Serums von Pockenkranken auszuführen. Vor allem kam es mir darauf an, zu prüfen, ob die serologischen Untersuchungsmethoden, die bei anderen Infektionskrankheiten in neuer Zeit eine große praktische Bedeutung gewonnen haben, in gleicher oder ähnlicher Weise bei der Variola vera verwandt werden können.

Das Ergebnis dieser Untersuchungen, soweit sie bereits abgeschlossen sind und zu einem verwertbaren Resultat geführt haben, möchte ich in nachstehenden Zeilen kurz mitteilen. Ich sehe davon ab, auf die Versuche und die Versuchsanordnung im einzelnen hier ausführlich einzugehen; ich beschränke mich vielmehr darauf, einen kurzen Ueberblick über die Ergebnisse der Versuche zu geben, die bereits im Herbste vorigen Jahres ausgeführt wurden. Einige andere Gesichtspunkte haben sich bei den bisherigen Untersuchungen ergeben, die noch eine weitere Klärung durch neue Versuche bedürfen. Diese sind bereits begonnen, aber noch nicht beendet. Nach Abschluß derselben werde ich ausführlich auf sämtliche Untersuchungen zurückkommen.

Von den Untersuchungsmethoden beanspruchte naturgemäß das größte Interesse die von Bordet und Gengou gefundene Reaktion der Komplementverankerung, die dann besonders von Wassermann weiter ausgebaut und mit größtem Erfolge in die Praxis übertragen wurde.

Als Antigen kam zunächst die animalische Lymphe in Betracht. Sie wurde im Verhältnis von 1:10 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und kräftig durchgeschüttelt. Ein Teil der Verdünnung wurde durch sterile Papierfilter so lange filtriert, bis die Flüssigkeit vollkommen klar war.

Zu 0,2 ccm von der verdünnten Lymphe wurde das inaktivierte Serum von den Pockenkranken in fallenden Mengen von 0,5 ccm an zugesetzt, und nach Beifügung von 0,1 ccm Meerschweinchenkomplement eine Stunde im Brutschrank gehalten. Das dann zugegebene hämolytische System zeigte in allen Fällen eine vollständige oder fast vollständige Hemmung der Hämolyse. Die Kontrollversuche mit Serum von gesunden Menschen, die in den letzten Jahren keiner Impfung unterzogen waren, zeigten vollkommene Hämolyse. Ob filtrierte oder unfiltrierte Lymphe gebraucht wurde, war für den Ausfall der Reaktion von keinem wesentlichen Einfluß. Auf diese Weise wurden 10 Sera von verschiedenen Pockenkranken geprüft, alle mit demselben Ergebnis.

Die Eigenschaft des Serums von Pockenkranken, mit Lymphe Komplement zu bilden, scheint jedoch nach überstandener Krankheit im Organismus bald zu schwinden oder doch in ihrer Stärke wesentlich abgeschwächt zu werden. Dafür sprechen folgende Versuche.

3—4 Monate nach Ablauf der Erkrankung wurde von 3 der früher erkrankten Personen von neuem Blut entnommen. Dies Serum konnte mit Lymphe keine vollständige Bindung des Komplements mehr bewirken, es trat nun eine teilweise oder vollständige Hämolyse ein. Durch eine Aenderung der wirksamen Substanzen der Lymphe war dieser Ausfall nicht bedingt. Gleichzeitig mit dem frischen Serum wurde auch das früher entnommene Serum von 2 Kranken, das sich, auf Eis aufbewahrt, gut erhalten hatte, geprüft und dadurch ein günstiger Vergleich der Wirkung beider Sera geschaffen. Das alte Serum auf der einen Seite bewirkte vollständige oder fast vollständige Hemmung, auf der anderen Seite beim neuen Serum trat vollständige oder fast vollständige Hämolyse ein.

Als Antigen diente ferner der wässerige Extrakt der Leber und Milz von einem 2-jährigen pockenkranken Kinde, das nach schwerem Krankheitsverlauf der Krankheit erlag. Die Herstellung des Extrakts geschah in der üblichen Weise. Die Organe wurden fein zerrieben, mit Phenol-Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 24 Stunden geschüttelt und dann durch starkes Zentrifugieren von allen korpuskulären Elementen befreit. Derselbe wurde in Mengen von 0,1 ccm verwandt, die Versuchsanordnung war sonst wie oben. Auch bei diesen Versuchen trat vollkommene oder fast vollkommene Hemmung ein im Gegensatz zu den Kontrollversuchen mit normalem Menschenserum oder bei Anwendung von normalem Leberextrakt oder Luesleberextrakt mit Serum von Pockenkranken oder normalem Menschenserum, in denen das Komplement nicht gebunden wurde und Hämolyse bewirkte.

An Stelle des Leberextrakts von der Pockenleiche wurde in einer Reihe von Versuchen der wässerige Extrakt der Leber von einem Lymphkalbe genommen, das 4 Wochen nach der Impfung getötet wurde. Die Impfung war in der Königl. Impfanstalt in Köln ausgeführt.

Der Vorsteher der Anstalt, Herr Kreisarzt Dr. **Meder**, hatte die Liebenswürdigkeit, mir ein Stück von der Leber des Kalbes zu übersenden. Die Resultate, die bei diesen Versuchen erzielt wurden, waren wesentlich andere. Es trat bisher stets komplette Hemmung der Hämolyse ein, sowohl bei Serum von Pockenkranken wie auch bei den bisher angewandten Normalsera.

In anderen Versuchen wurde das Verhalten des Leberextrakts von dem Lymphkalbe und des Milz- und Leberextrakts von der Pockenleiche bezüglich ihres Bindungsvermögens gegen Lymphe geprüft.

Zu 0,2 ccm der unfiltrierten Lymphe wurden obige Extrakte in fallenden Mengen von 0,5 ccm an zugesetzt. Sowohl beim Leberextrakt vom Lymphkalbe wie auch beim Leber- und Milzextrakt von der Pockenleiche trat vollkommene Hemmung ein. Die Kontrollversuche mit entsprechenden Extrakten von einer normalen Leber vom Kalbe und Menschen sowie mit Extrakt von Luesleber ergab vollkommene Hämolyse. Diese Versuche ergaben stets ein sicheres Resultat, denn der vollständigen Hemmung beim Zusatz von Pockenimmunserum entsprach eine vollständige Hämolyse beim Zusatz von Normalserum.

Die Frage, ob vielleicht im Serum von Pockenkranken Substanzen sich vorfinden, die eine spezifisch agglutinierende Wirkung auf die Lymphe ausüben, wurde durch folgende Versuche zu beantworten gesucht. Es wurde von der Voraussetzung ausgegangen, daß in der animalischen Lymphe das bisher noch unbekannte Pockenvirus, wenn auch in abgeschwächter Form, vorhanden ist. Die Lymphe wurde wiederum im Verhältnis von 1:10 mit Kochsalzlösung verdünnt, stark geschüttelt, um auf diese Weise eine gleichmäßige und feine Verteilung der Bestandteile der Lymphe herbeizuführen, und dann so lange durch Papierfilter filtriert, bis das Filtrat vollkommen klar und frei von flockigen Beimengungen war.

Zu 0,5 ccm des Filtrats wurde das Serum der Pockenkranken in Verdünnungen von 1:10—1:100 zugesetzt und nach Verweilen von 1—24 Stunden in Zwischenpausen geprüft. Das Ergebnis dieser Versuche war negativ. Weder makroskopisch trat eine flockige Trübung, noch mikroskopisch eine Häufchenbildung auf, die für eine Agglutination sprach. Wohl wurden einige Male flockige Fällungen beobachtet, ihr Auftreten war jedoch unbestimmt und wechselnd, und sie entstanden ebenso mit Normalserum und machten mehr den Eindruck einer chemischen Reaktion.

Nachdruck verboten.

Opsonine und Antiopsonine in ihrer Wirkung auf Tuberkelbacillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Straßburg i. E. (Direktor: Prof. Dr. J. Forster) und dem Royal Victoria Hospital Laboratorium Edinburgh (Direktor: Dr. R. W. Philip).]

III. Mitteilung.

Von
Dr. **W. Fornet**, Oberarzt F.-A.-R. 42, z. Zt. komm. z. Reichskommissar für die Typhusbekämpfung.
und
Dr. **A. E. Porter**, wissenschaftlicher Assistentin am Hospital.

Mit 1 Kurve.

Nachdem wir in unserer letzten gemeinsamen Arbeit das Verhalten der Opsonine des Normalserums gegenüber Paratyphusbacillen untersucht hatten, sollen im folgenden kurz die entsprechenden Versuche an Tuberkelbacillen mitgeteilt werden.

I. Methodik.

Wie bisher, gelangte auch diesmal die im Wrightschen Laboratorium geübte Technik zur Anwendung.

In die Kapillaren wurden jedesmal 4 gleiche Teile Flüssigkeit aufgenommen, und zwar 1 Teil Leukocyten, 1 Teil Bacillen und 2 Teile Serum, oder 1 Teil Serum und 1 Teil physiologische Kochsalzlösung.

In der Regel kamen menschliche Blutleukocyten zur Anwendung; nur in den Fällen, wo Meerschweinchenserum geprüft werden sollte, wurden auch Blut- oder Exsudatleukocyten vom Meerschweinchen benutzt. Zur Erzielung einer sehr reichlichen Menge Exsudat erwies sich folgende Methode zuverlässiger als jede andere: Zwei intraperitoneale Injektionen von je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung 18 und

4 Stunden vor Entnahme des Exsudats. Diese Methode hat außerdem den Vorteil, daß ein Tier wiederholt gebraucht werden kann, wenn man die Leukocyten mittelst Glaskapillare aus der Bauchhöhle entnimmt.

Die mit den verschiedenen Mischungen beschickten Kapillaren wurden für 15 Minuten wagerecht in einen Brutschrank von 37° gelegt.

Als Bacillenemulsion wurde das käufliche Präparat von Allen & Hambury-London benutzt; die Verdünnung der Emulsion erfolgte mit 1-prom. Kochsalzlösung.

Wurde Serum erhitzt oder in anderer Weise vorbehandelt, so geschah dies, falls nichts anderes vermerkt ist, für die Dauer von 30 Minuten. Für die Absorptionsversuche wurde eine Mischung von Eis und K_2SO_4 benutzt, deren Temperatur zwischen —2° und —1° schwankte. Vor Beginn der Absorptionsversuche wurden die einzelnen Komponenten gleichfalls auf 0° abgekühlt.

Die nachträgliche Trennung durch Zentrifugieren und Waschen wurde ebenso bei 0° vorgenommen.

Die Ausstrichpräparate wurden noch feucht über 2-proz. Osmiumsäure oder Formalin-Eisessig fixiert und nach folgender Methode gefärbt, bei welcher das Protoplasma der Leukocyten hellviolett, die Kerne dunkelblau und die Tuberkelbacillen leuchtend rot erscheinen:

1) Ehrlichs Hämatoxylin (Grübler) 4 Stunden oder beliebig länger.
2) Abspülen mit destilliertem Wasser, Trocknen.
3) Kochendes Karbolfuchsin aufgießen, 10 Minuten belassen.
4) 2-proz. Lösung von salzsaurem Anilin 1 Minute oder länger (ohne vorheriges Abspülen!).
5) Entfärben mit 96-proz. Alkohol, bis das ganze Präparat einen rein violetten Ton zeigt; Abspülen unter Leitungswasser, Trocknen.
6) Nachfärben mit Methylenblaulösung $^1/_4$ Minute.

Wo nichts anderes vermerkt ist, werden im folgenden unter „Opsonin“ die Opsonine des normalen Blutserums für Tuberkelbacillen verstanden.

Die vielen abfälligen Urteile, welche in letzter Zeit über die Zuverlässigkeit der Opsoninbestimmung nach Wright gefällt worden sind, veranlassen uns, zunächst kurz auf diese so wichtige Frage einzugehen.

Ein großer Teil der Nachuntersucher ist mehr oder weniger erheblich von der ursprünglichen Technik abgewichen; bei der Feinheit der Methode können die Ergebnisse derartiger Arbeiten unseres Erachtens gar nicht zur Bewertung der Wrightschen Methode herangezogen werden.

Andere Forscher wurden enttäuscht, weil sie zu hohe Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der neuen Methode stellten und erwarteten, daß eine einmalige Opsoninbestimmung zur Sicherstellung einer klinischen Diagnose genügen würde. Nachdem aber Krencker (1), wir und andere vor uns für Tuberkulose und andere chronische Krankheiten dargetan haben, daß in einem bestimmten Fall der opsonische Index selten dauernd erhöht oder dauernd erniedrigt ist, sondern meist von einem Extrem zum anderen schwankt und dabei häufig die normalen Mittelwerte passiert, muß ein derartiges Beginnen von vornherein als aussichtslos gelten.

Unabhängig von der klinischen Brauchbarkeit ist die Verwendung der Wrightschen Technik als Laboratoriumsmethode zu beurteilen. Hier kommt es lediglich darauf an, sich zu vergewissern, ob die Höhe der phagocytären oder opsonischen Zahl innerhalb bestimmter Grenzen einzig und allein von der Art des untersuchten Serums abhängt, oder ob etwa ein und dasselbe Serum bei wiederholter opsonischer Prüfung Werte ergibt, welche in unkontrollierbarer Weise voneinander abweichen.

Zur endgültigen Beantwortung dieser Frage erschien es uns am zweckmäßigsten, zunächst für zwei Sera von nicht tuberkulosekranken Personen längere Zeit hindurch den phagocytären Index zu bestimmen und daraus mittelst Division der für das Serum A ermittelten Werte durch die beim Serum B gefundenen Zahlen fortlaufend den opsonischen Index des Individuums A zu berechnen.

Bei dieser Art des Vorgehens konnten alle nur denkbaren Fehlerquellen ihre Wirkung ausüben und mußten dann in einem ausgesprochenen Schwanken des opsonischen Index ihren Ausdruck finden. Als Faktoren, welche derartig ungleichmäßige Befunde hervorrufen konnten, kamen zunächst die physiologischen Schwankungen des Phagocytose befördernden Einflusses der beiden Sera, die täglich wechselnde Dichte der Bacillen- und Leukocytenemulsion, die nur annähernd gleichmäßig auszuführende Art des Ausstrichs, die Färbung und schließlich der vielleicht ebenfalls schwankende persönliche Faktor des Zählens in Betracht.

Es wurden in dieser Weise zwei menschliche Sera 26 Tage lang täglich untersucht, ohne daß die Tageszeit der Blutentnahme immer notwendigerweise die nämliche war. Setzten wir die jeweils für das Serum B gefundenen Werte gleich 1, so betrug der opsonische Index des Serums A im Durchschnitt von 26 Versuchen 1,05; ein Mittelwert, von welchem sich die täglich festgestellten opsonischen Indices nur wenig entfernten; die höchste während der ganzen 26 Tage nur einmal erreichte Zahl war 1,29; die niedrigste 0,82. Zieht man in Erwägung, daß in diesen Differenzen — 0,47 zwischen den seltensten Extremen und 0,24 zwischen ihnen und dem Durchschnitt — wie oben dargelegt, alle überhaupt möglichen Fehlerquellen der Methode, sowie auch die physiologischen Schwankungen des opsonischen Index enthalten sind, so muß man zu der Ueberzeugung gelangen, daß die gefundenen opsonischen Zahlen nicht, wie manche annehmen, ein Spiel des Zufalls, sondern der zahlenmäßige Ausdruck tatsächlich vorhandener Verhältnisse sind.

Selbst wenn man nicht, wie wir es in allen übrigen Versuchen und auch bei den eben erwähnten 52 Präparaten getan haben, je 100 Leukocyten, sondern nur je 50 zählt, erhält man Zahlen, welche um einen Mittelwert von 0,98 nur von 0,83 bis 1,27 schwanken.

Um zu entscheiden, welchen Anteil an diesen Schwankungen des opsonischen Index das Serum als solches hat und welcher der Methode an sich zur Last zu legen ist, wurde von 3 Personen an 8 verschiedenen Tagen Serum entnommen und von jedem Serum nicht eine, sondern 3 Mischungen mit Leukocyten- und Bacillenemulsion angefertigt, so daß für jeden Versuch 9 Kapillaren für die Anfertigung der Ausstrichpräparate zur Verfügung standen. Das erste Serum A wurde jeweils als Testserum benutzt und der opsonische Index der beiden anderen Sera B und C in der Weise berechnet, daß man die für sie gefundenen Werte durch die beim Serum A erhaltenen Zahlen dividierte. Zur Auffindung der Grenzwerte wurden die höchsten für Serum B oder C gefundenen Zahlen durch die niedrigsten bei Serum A erhobenen Werte dividiert und dann umgekehrt die niedrigsten Ziffern von B und C mit den höchsten von A in gleicher Weise in Beziehung gesetzt. Die Zahl der durchschnittlich von 100 Leukocyten aufgenommenen Bakterien betrug für das Serum A, aus 24 Kapillaren und 8 verschiedenen Versuchen berechnet, 161, für Serum B 165, für Serum C, welches von einer Krankenschwester stammte, 146. Daraus ergibt sich für Serum B ein durchschnittlicher opsonischer Index von 1,02 und für Serum C von 0,92. Von diesen Mittelwerten entfernten sich die gefundenen opsonischen Indices nach oben um

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

höchstens 0,33 bezw. 0,23 und nach unten um 0,29 bezw. 0,19. Bei der 3-maligen Bestimmung des opsonischen Index ein und desselben Serums mittelst 3 verschiedener Testserum-Leukocyten-Bacillenmischungen war die größte an 8 Versuchstagen überhaupt beobachtete Differenz 0,42 für Serum B und 0,38 für Serum C.

Berücksichtigt man, daß bei der praktischen Ausführung des opsonischen Versuchs nicht drei verschiedene Testserum-Bakterien-Leukocytenmischungen mit ihren innerhalb der Fehlergrenzen der Methode voneinander abweichenden Werten, sondern eine Testserum-Bakterien-Leukocytenemulsion der Berechnung zugrunde gelegt wird, so muß man zu der Ueberzeugung gelangen, daß die von Wright für normale Sera angegebene Schwankungsbreite von 0,4 (0,8—1,2) tatsächlich eine Konstante darstellt, in welcher bereits alle nur denkbaren Fehlerquellen der Methodik, sowie die überhaupt vorkommenden physiologischen Schwankungen des opsonischen Index zum Ausdruck kommen. Die eben zusammenfassend wiedergegebenen Versuche mit den 3 an 8 verschiedenen Tagen je 3mal untersuchten Seris scheinen dafür zu sprechen, daß die für den opsonischen Index festzustellenden Schwankungen zwar zum größeren Teil der Methode als solcher zuzuschreiben sind, daß sich aber auch die Phagocytose befördernde Kraft eines Serums innerhalb enger Grenzen ändert. So zeigt das Serum B, obwohl es an demselben Testserum A ausgewertet wurde, im allgemeinen etwas größere Schwankungen als das Serum C, die Differenz der Grenzwerte betrug für das Serum B durchschnittlich 0,27, dagegen für Serum C nur 0,25.

Nachdem wir uns noch einmal davon überzeugt hatten, daß die Opsoninbestimmung nach Wright bei demselben Serum innerhalb bekannter Fehlergrenzen stets die gleichen Resultate erzielt, mußten wir noch feststellen, ob der opsonische Index normaler Meerschweinchen ebenso wie der gesunder Menschen eine sich innerhalb gewisser Grenzen haltende Größe zeigt, da zu unseren Versuchen neben menschlichem Serum auch solches von Meerschweinchen Verwendung finden sollte. Zu diesem Zweck wurden 4 Meerschweinchen von Januar bis September 1907 beobachtet und monatlich ungefähr 2mal der opsonische Index in der oben angegebenen Weise bestimmt; hierbei ergab sich, daß auch bei Meerschweinchen der opsonische Index für Tuberkelbacillen eine konstante Größe ist, daß aber die Grenzen für die normalen Schwankungen etwas weiter als beim Menschen (0,8—0,2) gezogen werden müssen, nämlich von 0,7—1,3. Bei einem Meerschweinchen wurde gegen Ende März 1907 ein Sinken des opsonischen Index auf 0,3 festgestellt; ein Befund, den wir uns zunächst nicht erklären konnten, bei welchem wir jetzt jedoch annehmen möchten, daß dieses Sinken mit einer bestehenden Gravidität in Zusammenhang zu bringen war; jedenfalls hob sich der opsonische Index bald nach der Geburt von 2 Jungen wieder, um bis zum Ende des Versuchs dauernd innerhalb der Grenzen von 0,7 und 1,3 zu bleiben. Wir haben leider keine Gelegenheit gehabt, dieser interessanten Erscheinung weiter nachzugehen; sie scheint jedoch geeignet, die Beziehungen zwischen Schwangerschaft und Tuberkulose dem experimentellen Studium näherzurücken.

An dieser Stelle sei auch kurz daran erinnert, daß wir in Versuchen, welche auf Veranlassung von Herrn Prof. Forster (2) ebenfalls an Meerschweinchen ausgeführt wurden, feststellen konnten, daß Darreichung einer eiweißarmen Diät bei den Tieren ein Sinken des opsonischen Index unter den normalen Grenzwert hervorrief; leider mußten auch diese Versuche aus äußeren Gründen vorzeitig abgebrochen werden.

Durch das Studium der Fehlergrenzen der Methodik und der durch physiologische Vorgänge im Organismus bei Mensch und Tier hervorgerufenen Schwankungen des opsonischen Index haben wir im vorstehenden dartun können, daß die Opsoninbestimmung nach Wright tatsächlich vorhandenen Verhältnissen einen zahlenmäßigen Ausdruck verleiht, der bei Fortbestehen gleicher Verhältnisse innerhalb bekannter Grenzen unverändert bleibt und sich nur bei Eintritt neuer Verhältnisse ändert.

Wir wollen nunmehr zu dem eigentlichen Thema der Frage nach dem Wesen der Opsonine zurückkehren.

II. Normalopsonine.

Um zu entscheiden, ob Opsonine zu den Bakteriolysinen oder deren Komponenten in Beziehung stehen, soll zunächst untersucht werden, ob

A. Opsonin mit dem Komplement,
B. Opsonin mit dem Ambozeptor,
C. Opsonin mit Ambozeptor + Komplement

identisch ist.

A. Opsonin und Komplement.

Zur Feststellung der Gleichheit oder Verschiedenheit von Opsonin und Komplement wurde der Einfluß folgender Faktoren auf die Phagocytose befördernde Eigenschaft des Serums untersucht: 1) Hitze, 2) Kälte, 3) Verdünnung, 4) chemische Reaktion, 5) Zeit, 6) Ursprung, 7) Absorption, 8) Dialyse.

Von den zahlreichen Experimenten sind, wenn angängig, immer nur die beiden äußersten Grenzwerte und der Gesamtdurchschnitt der phagocytären Indices angegeben; die ausführlichen Protokolle finden sich in A. E. **Porter**, Phagocytosis and Immunity. [Diss. Edinburgh.] 1909.

Der phagocytäre Index, d. h. die Anzahl der durchschnittlich von einem polynukleären Leukocyten aufgenommenen Bacillen, ist aus den für je 100 Leukocyten gefundenen Werten berechnet.

1. Einfluß der Erhitzung.

Tabelle 1.

Versuchsnummer	N.M.S.	N.M.S. 56°	NaCl
5	4,2	3,44	0,84
65	1,6	0,52	0,1
Gesamtdurchschnitt (5 Versuche)	3,0	1,7	0,62

Opsoninverlust 43 Proz.

Versuchsnummer	N.M.S.	N.M.S. 60°	NaCl
6	5,5	0,94	0,84
38	1,12	0,1	0,00
Gesamtdurchschnitt (9 Versuche)	2,7	0,57	0,49

Opsoninverlust 79 Proz.

Versuchsnummer	N.H.S.	N.H.S. 56°	NaCl
44	10,0	0,8	0,46
70	0,7	0,03	0,00
Gesamtdurchschnitt (43 Versuche)	2,85	0,27	0,12

Opsoninverlust 90 Proz.

Versuchsnummer	N.H.S.	N.H.S. 60°	NaCl
63	5,4	0,1	0,1
72	1,0	0,03	0,0
Gesamtdurchschnitt (14 Versuche)	1,92	0,22	0,14

$\underbrace{\qquad\qquad\qquad\qquad}_{\text{Opsoninverlust 89 Proz.}}$

Normales Meerschweinchenserum = N.M.S. Physiologische Kochsalzlösung = NaCl. Normales Menschenserum = N.H.S.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß zwar ein normales Serum durch $^1/_2$-stündige Erhitzung auf 56° einen großen Teil seiner opsonischen Kraft einbüßt, daß aber selbst nach Erhitzung des Serums auf 60° noch fast ausnahmslos höhere Werte des phagocytären Index erzielt werden, als in den Kontrollen mit physiologischer Kochsalzlösung. Bezeichnet man als thermolabil diejenigen Eigenschaften eines Serums, welche durch $^1/_2$-stündige Erhitzung des unverdünnten Serums vollständig vernichtet werden, wie z. B. das hämolytische und bakteriolytische Komplement (**Bordet, Pfeiffer** und **Manwaring**), so zeigt sich, daß das Opsonin des Normalserums nicht thermolabil ist, sondern im Gegensatz zum Komplement eine gewisse Thermostabilität aufweist. Dieselben Befunde bezüglich der teilweisen Thermostabilität der Opsonine des Normalserums sind für andere Bakterien von **Leishman** (3), **Dean** (4), **Hektoen** und **Ruediger** (5), **Klien** (6), **Neufeld** und **Hüne** (8), **Mark, Simonds** und **Hannema** (9) erhoben worden. Allerdings haben diese Autoren der Erscheinung eine prinzipielle Bedeutung nicht beigelegt.

Daß sich die Opsonine in getrocknetem Normalserum anders verhalten, kommt hier nicht in Betracht.

2. Einfluß der Kälte.

0,3 ccm des Serums wurden $^1/_2$ Stunde bei 0° gehalten und dann bis zur Prüfung mehrere Stunden bei Zimmertemperatur oder $^1/_2$ Stunde lang im Brutschrank bei 37° belassen.

Tabelle 2.

Versuchsnummer	N.H.S.	N.H.S. 0°
51	3,0	1,56
56	1,4	1,44
Gesamtdurchschnitt (24 Versuche)	2,4	1,86

Entsprechende Versuche über das Verhalten des Komplements liegen unseres Wissens nicht vor. **Millar** und **Taylor** (10) fanden, daß auf 0° abgekühlte Kolloide ihre ursprüngliche elektrische Leistungsfähigkeit erst wieder erlangten, nachdem sie über Nacht bei 25° gehalten waren. Auf die Bedeutung dieser von uns bei den Opsoninen beobachteten Erscheinung kommen wir noch bei den Absorptionsversuchen zurück.

3. Einfluß der Verdünnung.

Nachstehende Verdünnungen des normalen Meerschweinchenserums mit 0,85-proz. Kochsalzlösung zeigten folgende Werte:

N.M.S. $^1/_{50}$ 6,33, $^1/_{100}$ 5,7, $^1/_{500}$ 3,13, $^1/_{800}$ 4,17, $^1/_{1000}$ 4,22, $^1/_{2000}$ 5,22, $^1/_{5000}$ 3,0, $^1/_{8000}$ 4,32, $^1/_{10000}$ 3,4; NaCl 1,9.

Wurden dieselben Serumverdünnungen zu stark sensibilisierten roten Blutkörperchen hinzugefügt, so erfolgte deutliche Hämolyse nur bis zu einer Verdünnung des Komplements von $^1/_{100}$; bei $^1/_{500}$ war noch ein „Spürchen“, bei $^1/_{1000}$ keine Hämolyse mehr festzustellen.

Wurde die Inkubation der Gemische in den Kapillaren über 15 Minuten (3—5 Stunden) hinaus ausgedehnt, so war der starke opsonische Effekt hoher Serumverdünnungen noch auffallender:

Tabelle 3.

Normales Menschenserum.

Versuchsnummer	Inkubationsdauer	Unverdünnt	$^1/_{50}$	$^1/_{100}$	$^1/_{500}$	$^1/_{1000}$	$^1/_{5000}$	$^1/_{10000}$	$^1/_{20000}$	$^1/_{50000}$	$^1/_{100000}$	NaCl
52	3 Stunden	—	5,6	5,0	6,53	5,52	7,16	5,5	3,95	4,8	6,9	3,03
53	5 „	2,7	2,4	1,5	1,2	1,2	1,4	1,1	1,5	0,5	0,96	0,3
54	$3^1/_2$ „	4,9						0,2	0,4	0,1	0,4	0,03
78	3 „		15,9	14,3	13,3	14,1	11,13	12,38	12,33	8,5	8,9	6,0
79	3 „		4,9	4,55	5,6	3,83	3,63	3,4	2,9	3,0	1,8	1,43

Wright fand opsonische Wirkung bei Serumverdünnungen bis zu $^1/_{192}$, Hektoen und Ruediger (5) bei $^3/_{1000}$. Sleeswijk (11) stellte in einem Falle gleichzeitiges Verschwinden von Opsonin und Komplement bei einer Verdünnung von $^1/_{640}$ fest. Bei seinen Versuchen über Blutkörperchenopsonine sah Keith (12) nur noch eine Spur Hämolyse bei $^1/_{50}$, während die Opsoninwirkung bei $^1/_{90}$ noch sehr stark war.

4. Einfluß von Säure.

Wären Komplement und Opsonin identisch, oder würde das Komplement einen integrierenden Bestandteil des Opsonins ausmachen, so müßte man erwarten, daß Aenderung der chemischen Reaktion auf beide den gleichen Einfluß ausüben würde. Ehrlich und Morgenroth (13) fanden, daß die Gegenwart von 10 Proz. Normalsalzsäure genügt, um Komplement unwirksam zu machen. Hecker (14) konnte Komplement zerstören, wenn er nur 0,3 ccm $^1/_{50}$ Normalsalzsäure zu 0,05 ccm Serum hinzufügte, d. h. also eine 1,71-proz. Normalsalzsäurelösung herstellte. Eine Reaktivierung des Komplements durch Natronlauge gelang nicht. Madsen (15) stellte fest, daß eine Konzentration von 0,003 Normalsalzsäure in einer 1-proz. Bakteriolysinlösung deren Wirksamkeit innerhalb 10 Minuten auf $^1/_4$ herabmindert. Im Gegensatz zu Hecker konnte Noguchi (16) Komplement durch Neutralisation mittelst Natronlauge

Tabelle 4.

Menschliches Serum.

Versuchsnummer	I frisch	II sauer	Prozentgehalt an Normal-HCl	Phagocytärer Index nach Neutralisation mit Normal-NaOH
45	5,2	5,66	0,133	
45	5,2	4,66	0,66	
45	5,2	5,0	1,33	
45	5,2	4,3	3,33	
45	5,2	4,0	6,66	
45	5,2	0,43	16,6	
48	3,6	0,06	16,6	1,0
59	1,5	0,05	16,6	0,1
59	1,5	1,4	6,66	
61	2,36	0,06	16,6	0,1
61	2,36	2,0	6,66	
80	2,13	1,5	6,6	
			Prozentgehalt an Normal-HNO_3	
50	1,62	0,16	25	
	1,62	0,2	10	
	1,62	1,6	2	
	1,62	1,5	1	
	1,62	1,8	0,5	
	1,62	1,65	0,1	

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

reaktivieren; nach demselben Autor wirkt Komplement am besten bei einer der Alkalinität des Blutserums entsprechenden Reaktion, während sich Opsonin in neutralem Medium am wirksamsten zeigte. Er stellte ferner fest, daß saure Reaktion die Opsoninwirkung des Serums unterdrückt, diese jedoch nach Neutralisation wiederkehrt.

Unsere eigenen Versuche über den Einfluß von Säure auf Opsonine hatten vorstehendes Ergebnis (Tabelle 4).

Nach diesen Versuchen macht also ein Gehalt von 6,66 Proz. Normalsalzsäure nur einen kleineren Teil der Opsonine unwirksam, nach Neutralisation findet eine teilweise Reaktivierung statt. In jedem Falle verschwand das Opsonin erst mit dem Auftreten einer makroskopisch sichtbaren Fällung im Serum.

Das Opsonin scheint demnach ebenso wie der Hitzewirkung auch der Säurewirkung gegenüber widerstandsfähiger zu sein als das Komplement.

Auch für Oxalsäure fand **Hektoen** (17), daß diese in bestimmten Konzentrationen das vorhandene Bakteriolysin zerstört, aber das Opsonin nicht beeinflußt.

5. Haltbarkeit der Opsonine außerhalb des Organismus.

Nach R. **Pfeiffer** wird das Komplement bei 6—10-tägiger Aufbewahrung des Serums unwirksam. Später stellte **Friedberger** fest, daß verdünntes, bei niedriger Temperatur und im Dunkeln gehaltenes Serum seine Komplementwirkung etwas länger behält.

Die Angaben über die Haltbarkeit des Opsonins widersprechen sich ziemlich. Nach **Wright** büßt Serum innerhalb 3 Tagen $^1/_8$—$^1/_2$ seines opsonischen Vermögens ein und wird wenige Tage später völlig unwirksam. **Jessie Horton** (18) fand bei Aufbewahren des Serums im Eiskasten die opsonische Kraft nach 10 Tagen fast unvermindert und selbst nach 4 Wochen noch nicht völlig verschwunden. **Hamilton** und **Horton** sahen die opsonische Serumwirkung noch nach 32 Tagen erhalten, wenn das Serum in Berührung mit dem Blutkuchen blieb und im Eisschrank belassen wurde. **Dean** konnte sogar noch in einem 4 Jahre alten Pferdeserum die Anwesenheit von Opsonin nachweisen.

Wir selbst haben oft in Serum, welches steril bei Zimmertemperatur aufbewahrt war, noch nach 21, 23, 25, 27 und 28 Tagen einen beträchtlichen Opsoningehalt feststellen können. So war der phagocytäre Index eines 25 Tage alten Serums für Paratyphusbacillen 19,0, während die Kochsalzkontrolle 0,6 zeigte; dasselbe Serum war für Paratyphusbacillen bakteriolytisch vollkommen unwirksam geworden, wobei noch zu berücksichtigen ist, daß dieser Stamm gegenüber den Bakteriolysinen empfindlicher war als gegenüber den Opsoninen, wie wir in der II. Mitteilung über Opsonine zeigen konnten.

In anderen Fällen dagegen übten 21 Tage alte Sera so gut wie keine opsonische Wirkung mehr aus.

6. Ursprung der Opsonine.

Löhlein (19) nimmt an, daß das Opsonin denselben Ursprung hat wie das Komplement, nämlich die Leukocyten.

Simon, Lamar und **Bispham** (20) prüften, ob irgendwelche Beziehungen zwischen Opsoningehalt des Serums und Leukocytengehalt des Blutes beständen; sie fanden keine Uebereinstimmung zwischen beiden Faktoren, ein Ergebnis, welches auch von **Veitch** (21) bestätigt wurde.

Wir fügten teilweise autolysierte, unter Toluol steril gehaltene Leukocyten, welche aus einer aseptischen Eiterung eines Hundes stammten, zu frischen Leukocyten und Tuberkelbacillen; der Index war 0,76, während dieselben Aufschwemmungen frischer Leukocyten und Tuberkelbacillen bei Gegenwart von physiologischer Kochsalzlösung einen Wert von 0,88 und bei Gegenwart normalen Meerschweinchenserums 3,48 ergaben.

Die angeführten Tatsachen scheinen nicht für einen 'leukocytären Ursprung der Opsonine zu sprechen.

7. Opsonine und Absorption.

Dean (22), Neufeld und Hüne (8), Levaditi, Inmann (23) und Koessler (24), Muir und Martin (25), Sleeswijk (11) u. a. haben gefunden, daß Holzkohle, Organbrei, Hefezellen Präzipitate und ähnliches Komplement und Opsonine zu gleicher Zeit unwirksam machen, sie haben hieraus den Schluß ziehen wollen, daß Opsonine und Komplemente identisch sind. Dieser Analogieschluß wird aber hinfällig, sobald auch nur eine Eigenschaft festgestellt ist, in welcher sich Opsonine und Komplemente prinzipiell verschieden verhalten, zumal diese Absorbierbarkeit durch körperliche Elemente nichts den Komplementen Eigentümliches ist, sondern sich z. B. auch bei der großen Gruppe der Fermente findet.

Nach Ehrlich und Morgenroth geht das Komplement allein mit den roten Blutkörperchen oder Bakterien keine Verbindung ein und kann von ihnen durch einfaches Waschen entfernt werden. Hektoen und Ruediger (5), Wright, Bulloch und Atkin (26) haben im Gegensatz hierzu die Beständigkeit der Verbindung Opsonin + Bakterien betont. Während das Komplement noch bei einer Temperatur von 0° selbst von Ambozeptor beladenen Blutkörperchen oder Bakterien nach Ehrlich und Morgenroth gar nicht oder doch nach den neuesten Untersuchungen von Neufeld und Händel (27) nur bei Verwendung hochwertiger Immunsera und nur zum kleinen Teil absorbiert wird, büßt nach den übereinstimmenden Befunden von Dean, Meyer, Cowie und Chapin dagegen ein bei 0° mit Bakterien digeriertes Serum den größten Teil seiner Opsonine ein. Auffallend ist aber, daß die zur Vorbehandlung des Serums benutzten Bakterien durchaus nicht viel stärker von Leukocyten bei Gegenwart von physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen werden als unbehandelte Bakterien.

Tabelle 5.

Versuchsnummer	Normales menschliches Serum bei 0° mit Tuberkelbacillen vorbehandelt	Kontrolle: Normales menschliches Serum 30 Minuten bei 0° vorbehandelt
42	0,05	1,8
50	1,7	2,85
Gesamtdurchschnitt (aus 9 Versuchen)	0,7	2,6

Tabelle 6.

Versuchsnummer	Frisches menschliches Serum + unbehandelte Bakterien	Physiologische Kochsalzlösung + unbehandelte Bakterien	Physiologische Kochsalzlösung + Bakterien, die bei 0° mit frischem Serum vorbehandelt waren
87	1,1	0,3	0,35
41	5,7	0,18	0,05
Gesamtdurchschnitt (aus 5 Versuchen)	4,73	0,22	0,98

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Die in diesen Versuchen in die Erscheinung tretende und auch von anderen beschriebene Tatsache, daß nach Digestion eines Serums bei 0° das Serum den größten Teil seiner Opsonine verliert, ohne daß sie an den vorbehandelten Bakterien durch stärkere Phagocytose in erheblichem Umfange nachweisbar werden, ist mit der Auffassung der Opsonine als Komplement unvereinbar und läßt sich nur durch zwei Möglichkeiten erklären: Entweder besteht das Opsonin tatsächlich, wie Neufeld, Cowic, Chapin und Meyer wollen, aus zwei für sich allein unwirksamen Komponenten, welche durch die genannte Behandlung voneinander getrennt werden, oder aber die Bakterien gehen bei 0° mit den Opsoninen nur eine lockere Bindung ein, welche den Einwirkungen des nachfolgenden Waschens und Zentrifugierens nicht gewachsen ist, so daß die Opsonine mit dem Waschwasser entfernt werden; leider war es uns nicht mehr möglich, ein derartiges Waschwasser auf seinen Opsoningehalt zu prüfen.

Die Hypothese Opsonin = Ambozeptor + Komplement wird weiter unten zu besprechen sein, vorläufig bleibt nichts anderes übrig, als anzunehmen, daß bei 0° tatsächlich nur eine lockere Bindung des Opsonins durch die Bakterien erfolgt und daß es bei dem nachfolgenden Waschen und Zentrifugieren wieder abgegeben wird. Diese Annahme ist um so wahrscheinlicher, als nach Dean und Meyer auch bei 37° mit Serum behandelte Bakterien während des Waschens mit physiologischer Kochsalzlösung noch einen erheblichen Teil der dem Serum entnommenen Opsonine wieder abgeben, nach Hektoen und Ruediger sogar bis zur Hälfte des Betrages. Wir selbst erhielten in 5 Versuchen durchschnittlich folgende Werte:

	Unbehandelte Bakterien	+ Kochsalzlösung	0,33
	„ „	+ frisches Serum	4,40
Bei 37° mit Serum vorbehandelte	„	+ Kochsalzlösung	1,38

Für die Auffassung des Vorganges der Opsonisation sind diese Versuche insofern von Bedeutung, als sie zeigen, daß dieser Prozeß in zwei Phasen abläuft, einer anscheinend unspezifischen Absorption und einer wohl spezifischen Bindung.

Demnach nehmen also die Opsonine auch in ihrem Verhalten zur Absorption eine Mittelstellung zwischen den Komplementen einerseits und den Ambozeptoren andererseits ein.

8. Opsonine und Dialyse.

Die Dialyse erfolgte gegen physiologische 0,85-proz. Kochsalzlösung, da nach dem oben Gesagten von vornherein anzunehmen war, daß durch Dialyse gegen destilliertes Wasser im Serum hervorgerufene Eiweißfällungen das Opsonin unwirksam machen würden.

Kleine, etwa 0,15—0,25 ccm haltende Kollodium- oder Schilfsäckchen wurden erst in Wasser, dann in physiologischer Kochsalzlösung getränkt, kamen darauf in kleine, 0,25—0,3 ccm physiologische Kochsalzlösung enthaltende Gläschen und wurden mit dem zu dialysierenden Serum beschickt. Zu bestimmten Zeiten wurden Proben entnommen und aufbewahrt, bis zum Schluß des Versuches die ganze Reihe Proben mit derselben Bacillen- und Leukocytenemulsion opsonisch ausgewertet wurde. Das Kontrollserum war inzwischen den gleichen Temperatur- und Verdunstungs- etc. Bedingungen ausgesetzt; ebenso die verschiedenen in bestimmten Zeitintervallen entnommenen Proben.

Tabelle 7.

Versuchsnummer	Normales menschliches Serum		Dauer der Dialyse	Kochsalzlösung außerhalb der Membran	Kontrolle mit 0,85-proz. NaCl	
	dialysiert	Kontrolle				
26	1,66	1,93	20 Minuten	—	0,06	Kollodiumsäckchen
26	1,13	1,93	40 „	—	0,06	
26	0,93	1,93	2$^{1}/_{2}$ Stunden	—	0,06	
27	0,44	1,53	6 Tage	0,1	0,0	
30	2,13	2,66	45 Minuten	—	0,1	Schilfsäckchen
30	1,26	2,16	19 Stunden	—	0,1	
31	1,13	1,06	2$^{1}/_{2}$ Tage	0,0	0,03	Schilfsäckchen
34	0,9	1,13	1 Stunde	—	0,1	
34	0,96	1,13	40 Stunden	—	0,1	
34	0,4	1,13	1 Stunde	—	0,1	Kollodiumsäckchen
34	0,23	1,13	40 Stunden	—	0,1	
37	1,66	1,96	20 Minuten	—	0,03	
37	1,13	1,96	40 „	—	0,03	
37	0,93	1,96	2$^{3}/_{4}$ Stunden	—	0,03	
39	4,53	5,18	15 Minuten	0,13	0,1	
39	1,93	5,18	2$^{1}/_{2}$ Stunden	0,1	0,1	
39	1,1	5,18	4 „	0,1	0,1	
39	0,7	5,18	6 „	0,1	0,1	
39	0,33	5,18	22 „	0,13	0,1	
39	0,21	5,18	30 „	0,06	0,1	
45	1,4	4,8	2 Tage	—	—	
46	1,0	3,5	4 „	—	0,6	
46	1,7	4,0	5 Stunden	—	0,6	
47	0,13	2,32	5 Tage	—	0,1	
47	0,3	2,5	1 Tag	—	0,1	
48	0,1	1,8	7 Tage	—	0,26	
48	0,22	2,5	3 „	—	0,26	
50	0,1	3,26	5 „	—	0,2	
95	1,3	1,6	3 Stunden	0,03	0,03	Schilfsack
96	0,6	1,33	24 „	—	—	
97	0,36	0,8	2 Tage	—	—	
98	1,23	1,33	3 „	—	—	
99	1,5	2,3	5 „	—	—	
100	1,3	1,6	2$^{1}/_{2}$ „	—	—	

Die Opsonine des gegen physiologische Kochsalzlösung dialysierten Normalserums werden also mehr oder weniger rasch teilweise unwirksam; die physiologische Kochsalzlösung außerhalb der Membran erwirbt keine die Phagocytose begünstigenden Eigenschaften; diese letztere Tatsache ist au von York (29) beobachtet worden.

Gleichartig angelegte Versuche über den Einfluß der Dialyse auf das hämolytische Komplement sind uns nicht bekannt.

Die überaus interessanten neueren Versuche von Ferrata, Brand, Hecker, Hata, Simon, Lamarc und Bispham können nicht zum Vergleich herangezogen werden, da hier die Dialyse gegen Leitungswasser oder anisotonische Kochsalzlösung erfolgte und demgemäß meist ein Niederschlag im Serum erhalten wurde. Dagegen konnten wir bei unseren früheren Studien über Paratyphusopsonine (30) zeigen, daß ein derartiges durch Dialyse opsonisch fast unwirksam gewordenes Serum sich bakteriolytisch noch ebenso verhielt wie das dialysierte Kontrollserum.

Fassen wir das bisher Festgestellte kurz zusammen, so müssen wir sagen, daß sich im Verhalten der Komplemente und Opsonine gegenüber den verschiedensten Einwirkungen derartige Unterschiede ergeben haben, daß eine Identität beider ausgeschlossen erscheint; es wird auch unwahrscheinlich, daß das Komplement auch nur einen entscheidenden Einfluß auf die Wirkungsweise des Normalopsonins ausüben sollte.

B. Normalopsonin und Ambozeptor.

Die von Sawtschenko (31) ausgesprochene Ansicht, daß die Opsonine des Normalserums mit den Ambozeptoren (Fixateurs) identisch sind, schien durch die letzthin veröffentlichen Untersuchungen von Hannema (9) eine Stütze zu erhalten. Der bezüglich der Temperaturempfindlichkeit zwischen Opsonin-Ambozeptor bestehende Unterschied sollte kein absoluter und nur durch verschiedene Konzentration bedingt sein. Tatsächlich konnte Hannema zeigen, daß erst erhitztes und dann verdünntes Staphylokokkenimmunserum bei 32-facher Verdünnung noch zahlreiche mit der Bordet-Gengouschen Methode nachweisbare Ambozeptoren enthielt, während in demselben Serum, wenn es erst verdünnt und dann in gleicher Weise erhitzt wurde, bereits bei 4-facher Serumverdünnung alle Ambozeptoren durch die Erhitzung vernichtet worden waren. Leider fehlt aber der tatsächliche Nachweis, daß in einem Normalserum Opsonine und Ambozeptoren in derartig verschiedener Konzentration vorhanden sind, daß dadurch ihr so verschiedenes Verhalten gegenüber ein und derselben Temperatureinwirkung erklärt werden könnte. Wie auch aus den in Tabelle 1 wiedergegebenen Versuchen hervorgeht, wird bei 56° der größere Teil der Opsonine unwirksam, während bei Ambozeptoren die Thermostabilität die Regel ist.

Auch anderen als Temperatureinflüssen gegenüber erweist sich das Opsonin empfindlicher als der Ambozeptor. Nach Noguchi bleibt der Ambozeptor noch bei einer Säurekonzentration wirksam, bei welcher das Opsonin schon vollständig zerstört wird.

Einfacher Aufbewahrung gegenüber verhält sich der Ambozeptor, wie die allgemeine Laboratoriumserfahrung zeigt, ziemlich resistent, während das Opsonin innerhalb 30 Tagen zum größten Teil und oft auch völlig unwirksam wird.

Vergleicht man diese Angaben mit dem eingangs über Opsonin und Komplement Gesagten, so gewinnt man den Eindruck, daß bezüglich der Beständigkeit gegen äußere Einflüsse, wie Aufbewahrung außerhalb des Organismus, Hitze und Säure die Opsonine eine Mittelstellung zwischen Komplementen und Ambozeptoren einnehmen.

Gegen die Identität von Opsoninen und Ampozeptoren sprechen schließlich auch noch die Untersuchungen von Sleeswijk (11), welcher bei verschiedenen Tierseris mittels der Bordet-Gengouschen Methode den Gehalt an Milzbrandambozeptoren und Milzbrandopsoninen untersuchte und keinen Parallelismus zwischen beiden feststellen konnte. Die Auffassung, daß es sich um rein quantitative Unterschiede zwischen Opsoninen und Ambozeptoren handeln könnte, indem das Opsonin erst bei stärkerer Konzentration wirksam würde als die Ambozeptoren, wird durch die Befunde von Seris widerlegt, welche opsonisch wirken, ohne Ambozeptoren zu besitzen (Bächer, Neufeld und Hüne).

C. Normalopsonin und Ambozeptor + Komplement.

War es nach den bisherigen Darlegungen auch schon recht unwahrscheinlich geworden, daß sich die Normalopsonine aus Ambozeptor und Komplement zusammensetzten, so mußte doch diese Frage noch einmal besonders untersucht werden, da sich so viele Autoren, wie Dean (4), **Ledingham** (32), Neufeld und Hüne (8), Cowie und Chapin (28),

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Caulwell (33), Haentjens (34), Sleeswijk (11), Meyer (35), Hata (35a) u. a. für die Ambozeptor-Komplementnatur der Normalopsonine ausgesprochen haben.

Die genannten Autoren stützen sich im wesentlichen auf Trennungs- und Vereinigungsversuche. Ehrlich und Morgenroth haben bekanntlich in ihrem klassischen Versuch gezeigt, daß der Ambozeptor von roten Blutkörperchen auch bei 0° und —1° gebunden wird, daß bei geeigneten quantitativen Verhältnissen die gesamte Ambozeptormenge verankert wird, und daß sich diese Verbindung auch durch wiederholtes Waschen nicht lösen läßt. Sachs (36) konnte dartun, daß bis zur 100-fachen Menge der zur vollständigen Hämolyse erforderlichen Ambozeptoren von den Erythrocyten mit Beschlag belegt werden kann.

Bulloch und Atkin (29) und Löhlein (19) nehmen nun tatsächlich an, daß die Bakterien bei 0° vollkommen für die Phagocytose vorbereitet werden und dem Serum sämtliche Opsonine entziehen können. Andere Forscher, wie Dean (22), Meyer (35), Cowie und Chapin (28) konnten dieses Ergebnis nicht bestätigen. Unsere eigenen, unter den eingangs erwähnten Vorsichtsmaßregeln zur Vermeidung einer Temperaturerhöhung über 0° angestellten Versuche verliefen folgendermaßen:

Tabelle 8.

Versuchsnummer	0,85-proz. Kochsalzlösung + unvorbehandelte Pyocyaneusbacillen	0,85-proz. Kochsalzlösung + bei 0° mit frischem Serum vorbehandelte Pyocyaneusbacillen	0,85-proz. Kochsalzlösung + bei 37° mit frischem Serum vorbehandelte Pyocyaneusbacillen	0,85-proz. Kochsalzlösung + bei 37° mit erhitztem Serum vorbehandelte Pyocyaneusbacillen	Frisches Serum bei 37°; mit Tuberkelbacillen vorbehandelt + unvorbehandelte Pyoc.-Bac.	Frisches Serum + unvorbehandelte Pyocyaneusbacillen
86	0,4	0,26	1,26	0,7	0,8	11,3
87	0,3	0,35	1,0	0,3	—	1,1
91	0,83	1,05	3,93	—	1,55	5,16
82	0,1	—	0,5	0,2	0,53	3,6
83	0,03	—	0,23	0,1	0,3	0,83

Wie in unseren früher mitgeteilten Versuchen (30) über Paratyphusopsonine, verhalten sich demnach auch die Pyocyaneusbacillenopsonine nicht so, wie es von einem Ambozeptor-Komplementgebilde erwartet werden müßte. Aus äußeren Gründen mußte leider von einer Wiederholung dieser Versuche mit Tuberkelbacillen abgesehen werden.

Wenn nun auch eine Spaltung der Opsonine in ambozeptor- und komplementähnliche Bestandteile nicht gelingt, so wäre es doch immerhin noch möglich, daß bei Vereinigung zweier Sera, von denen das eine Ampozeptoren, das andere Komplemente enthielt, eine Reaktivierung des Opsonins erzielt werden kann.

Tabelle 9.

Versuchs-Nummer	I Normales menschliches Serum	II Normales menschliches Serum bei 0° mit Tuberkelbacillen vorbehandelt	III Normales menschliches Serum erhitzt 56°	I + II
23	2,65	0,16	0,13	0,7
50	4,0	1,7	0,2	1,6
51	3,8	1,4	0,2	1,13
73	1,0	0,3	0,05	0,2
106	5,2	0,98	0,52	0,4

Nur in Versuch 23 ist der phagocytäre Index für Serum II + III höher als rechnerisch aus II und III erwartet werden sollte; hinter dem Wert des frischen unbehandelten Serum I bleibt es aber noch um das Vielfache zurück, so daß von einer Reaktivierung nicht gesprochen werden kann.

Bei entsprechenden Versuchen anderer Autoren finden sich entweder keine zahlenmäßigen Angaben, oder nur verhältnismäßig geringe Erhöhungen des phagocytären Index für das Gemisch von inaktiviertem und absorbiertem Serum, wie sie auch im Versuch No. 23 zutage tritt; berücksichtigt man aber den ursprünglichen Index des unerhitzten Serums, so kann wohl von einer Reaktivierung nicht die Rede sein. Der Umstand, daß der für das Serumgemisch gefundene Wert höher ist, als die rechnerisch erhaltene Summe aus den phagocytären Werten der einzelnen Komponenten, erklärt sich zwanglos aus der schon an anderer Stelle (30) dargelegten und auch bei den obigen Verdünnungsversuchen in die Erscheinung tretenden Tatsache, daß mit zunehmender Konzentration eines Serums der phagocytäre Index unverhältnismäßig schneller ansteigen kann, als der fortschreitenden Konzentration entspricht.

Tabelle 10.

Versuche, inaktiviertes Serum durch frisches Serum zu reaktivieren.

Normales menschliches Serum

	Versuchsnummer	I verdünnt auf $^1/_{10}$	II erhitzt auf 56°	I + II
Höchster Wert	15	2,0	0,7	2,66
Niedrigster Wert	14	0,4	0,3	0,33
Gesamtdurchschnitt (4 Versuche)		1,8	0,51	1,43
	Versuchsnummer	I verdünnt auf $^1/_{20}$	II erhitzt auf 56°	I + II
Höchster Wert	58	0,54	0,06	0,68
Niedrigster Wert	70	0,2	0,03	0,0
Gesamtdurchschnitt (16 Versuche)		0,38	0,17	0,20
	Versuchsnummer	I unverdünnt	II erhitzt auf 56°	I + II
Höchster Wert	70	0,7	0,03	0,72
Niedrigster Wert	11	3,85	0,23	1,22
Gesamtdurchschnitt (30 Versuche)		2,77	0,3	2,11
	Versuchsnummer	I unverdünnt	II erhitzt auf 60°	I + II
Höchster Wert	12	3,45	0,12	3,7
Niedrigster Wert	75	1,3	0,1	0,21
Gesamtdurchschnitt (10 Versuche)		2,9	0,36	2,4
	Versuchsnummer	I verdünnt $^1/_{100}$	II erhitzt auf 60°	I + II
Höchster Wert	3	1,3	0,4	1,4
Niedrigster Wert	6	1,6	0,94	0,9
Gesamtdurchschnitt (6 Versuche)		1,16	0,65	0,96
	Versuchsnummer	I verdünnt $^1/_{50}$	II erhitzt auf 60°	I + II
Höchster Wert	1	0,6	0,4	1,2
Niedrigster Wert	6	2,6	0,94	0,92
Gesamtdurchschnitt (5 Versuche)		1,57	0,67	1,02
	Versuchsnummer	I verdünnt $^1/_{10}$	II erhitzt auf 60°	I + II
Höchster Wert	3	2,2	0,54	1,6
Niedrigster Wert	6	3,24	0,94	1,08
Gesamtdurchschnitt (7 Versuche)		1,7	0,55	0,74

Bei den eben auszugsweise wiedergegebenen Reaktivierungsversuchen wurden für das Gemisch von frischem und inaktiviertem Serum nur 3mal höhere Werte gefunden, als die Summe des phagocytären Index der beiden Sera für sich ausmachte; jedoch betrug dieser Ueberschuß nur

0,2, 0,08 und 0,02, Differenzen, welche noch innerhalb der Fehlergrenzen der Methodik liegen. Der opsonische Wert des frischen unverdünnten Serums wurde in keinem Falle auch nur annähernd erreicht.

Bei den übrigen 75 Versuchen wurde der opsonische Wert des inaktivierten Serums durch Hinzufügen von frischem Serum nicht nur nicht erhöht, sondern meistens sogar herabgesetzt.

Dieser Antagonismus zwischen frischem und erhitztem Serum bezüglich des opsonischen Effektes erinnert unwillkürlich an den Antagonismus zwischen frischen und erhitzten Fermentlösungen, wie er von Bearn und Cramer (37, 38), Pollak (39), Schwarz (40) u. a. beschrieben wurde und an den Gegensatz zwischen frischem und erhitztem Serum bezüglich der Wirkung des hämolytischen Komplements, der zuerst von Neisser und Doering (41) bei einem Urämiker entdeckt und von Michaelis und Oppenheimer (42), Friedemann und Isaac (43), v. Bergmann und Sarini (44), Eva Hoffmann u. a. eingehender studiert wurde.

Wie bei den frischen und erhitzen Fermentlösungen, tritt auch der opsonische Antagonismus zwischen frischem und erhitztem Serum oft bei verschieden starker Erhitzung der Serumproben in die Erscheinung; in Fällen, wo er bei 56° noch nicht ausgesprochen war, wurde zuweilen er bei 65° deutlich.

Tabelle 11.

Normales menschliches Serum.

	Versuchsnummer	I unverdünnt	II erhitzt auf 65°	I + II
Höchster Wert	68	0,75	0,03	0,45
Niedrigster Wert	68	0,75	0,02	0,1
Gesamtdurchschnitt (6 Versuche)		1,1	0,03	0,46
	Versuchsnummer	I verdünnt $^1/_{20}$	II erhitzt auf 65°	I + II
Höchster Wert	71	0,36	0,03	0,13
Niedrigster Weg	72	0,3	0,03	0,0
Gesamtdurchschnitt (8 Versuche)		0,26	0,04	0,08

Im Gegensatz zu diesen Befunden stehen die von Bächer (54) allerdings mit Choleravibrionen und Coli-Bacillen angestellten Versuche, in welchen ein Antagonismus zwischen frischem und erhitztem Serum bezüglich ihrer opsonischen Wirkung nicht zutage trat.

Inwieweit überhaupt die bisher schon wiederholt hervorgehobenen Widersprüche zwischen den Arbeiten der einzelnen Untersucher durch die verschiedenen Untersuchungsobjekte bedingt sind, bedarf noch weiterer Aufklärung. Unsere eigenen Feststellungen beziehen sich nur auf Paratyphus-, Tuberkel- und teilweise Pyocyaneus-Bacillen, für welche wir allerdings in allen Punkten eine vollkommene Uebereinstimmung bezüglich ihrer Aufnahmebedingungen durch Phagocyten konstatieren konnten.

Insbesondere haben wir sowohl für Paratyphus- als auch für Tuberkuloseopsonine im Normalserum unter den verschiedensten Versuchsbedingungen ein Verhalten beobachten können, welches mit der Auffassung der Normalopsonine als aus Ambozeptor und Komplement bestehende Körper nicht in Einklang zu bringen ist.

D. Normalopsonine und Agglutinine.

Die von Hektoen und Ruediger (5), Greig, Smith (46) und Löhlein (19) erwogene Möglichkeit einer Identität der Opsonine mit den Agglutininen muß wohl fallen gelassen werden, nachdem von Wright und anderen verschiedentlich Sera beschrieben worden sind, welche wohl

Agglutinine, aber keine Opsonine und umgekehrt enthielten; ganz abgesehen davon, daß schon die ausgesprochene Thermostabilität (**Bordet** [40]) der Agglutinine von vornherein gegen eine derartige Annahme spricht. Ferner konnte **Clark** (47) im Tierexperiment durch systematische Bestimmungen nachweisen, daß Opsonine und Agglutinine in einem Serum unabhängig voneinander variieren.

Die von **Sawtschenko** und manchen anderen vertretene Anschauung, daß die experimentell zwischen Agglutininen und Opsoninen festgestellten Unterschiede darauf beruhen, daß Agglutinine schon in größerer Verdünnung wirksam sind als die Opsonine, wird durch die eben erwähnten Befunde von **Clark** und durch die Arbeit von **Amako** (48) widerlegt. **Amako** konnte bei Cholerakranken zeigen, daß die Opsonin- und Agglutininkurve unabhängig voneinander verlaufen und daß häufig ein Serum stark opsonisch, aber nur schwach agglutinierend wirkt, während bei anderen Seris wieder ein umgekehrtes Verhalten beobachtet wurde.

III. Immunopsonine.

Wie bei den Normalopsoninen, sind auch bezüglich der Immunopsonine die Meinungen über ihr Verhältnis zu den übrigen Serumbestandteilen geteilt; während **Sawtschenko** (31), **Dean** (4), **Levaditi** (23), **Sleeswijk** (24), **Hannema** (9) den opsonischen Effekt des Immunserums als Ambozeptorwirkung ansprechen, andere die Immunopsonine mit den Agglutininen identifizieren, sehen **Wright** (50), **Neufeld** und **Rimpau** (55) in ihnen besondere Stoffe. Wir selbst haben uns früher (55) ebenfalls für die Selbständigkeit der Immunopsonine ausgesprochen.

1. Immunopsonine und Hitze.

Soweit das Serum vom Menschen stammte, rührte es von chronischen, lange unter Beobachtung stehenden und zum Teil mit Tuberkelbacillenpräparaten behandelten Tuberkulosefällen her.

Tabelle 12.

Tuberkuloseserum von Menschen.

	I frisch	II erhitzt auf 60°
Gesamtdurchschnitt (6 Versuche)	4,31	0,43
Grenzwerte	2,42 5,16	0,63 0,4

	I erhitzt auf 56°	II erhitzt auf 60°	NaCl (0,85-proz.)
Gesamtdurchschnitt (9 Versuche)	0,66	0,29	0,07
Grenzwerte	0,3 0,56	0,3 0,2	

Tuberkuloseserum von Meerschweinchen.

Versuchsnummer	I frisch	II erhitzt 56°	III erhitzt 60°	NaCl (0,85-proz.)
3	2,06	—	0,64	0,62
3		1,34	0,78	
		2,0	0,78	
			0,64	

Wie aus diesen kleinen Versuchsreihen, welche aus äußeren Umständen abgebrochen werden mußten, ersichtlich ist, erleidet auch das Immunserum durch halbstündige Erhitzung auf 56° eine wesentliche Einbuße an seiner phagocytosebefördernden Wirkung; diese Schädigung ist zu beträchtlich, als daß sie auf Rechnung der bei dieser Behandlung teilweise zerstörten Normalopsonine gesetzt werden könnte, dagegen spricht auch der recht erhebliche Unterschied zwischen dem auf 56° und dem auf 60° erhitzten Immunserum. Während bei $^1/_2$-stündiger Erhitzung von normalem Serum der Opsoninverlust durchschnittlich 88 Proz. ausmachte, betrug er beim Tuberkuloseserum nur 72 Proz. Da nun die Ausgangswerte des frischen Tuberkuloseserums durchaus nicht immer höher waren als die des Normalserums, kann der Opsoninverlust des Tuberkuloseserums bei der Inaktivierung nicht ausschließlich auf Rechnung der etwa vorhandenen thermostabilen Normalopsonine gesetzt werden. Der verhältnismäßig geringe Widerstand der Immunopsonine gegen Temperaturen von 56° und 60° macht eine Identität der Immunopsonine mit den ausgesprochenen thermostabilen Ambozeptoren und Agglutininen höchst unwahrscheinlich.

Für die Selbständigkeit der Immunopsonine gegenüber den anderen bekannten Serumbestandteilen sprechen auch die von Wright (51), Barrat (57), Keith (58), Bächer (56), Neufeld (8 und 55) mit seinen Mitarbeitern Rimpau, Töpfer, Bickel und Hüne mitgeteilten Tatsachen, daß die bakteriolytische, agglutinierende und opsonische Kraft eines Serums nicht Hand in Hand miteinandergehen, und daß ein Serum die eine der drei genannten Fähigkeiten in ausgesprochenem Maße besitzen kann, ohne gleichzeitig die beiden anderen aufzuweisen.

Eine wesentliche Stütze hat die Annahme einer Unabhängigkeit der Immunopsonine von den übrigen Immunkörpern durch die schon erwähnten Untersuchungen von Amako erhalten. Dieser Autor stellte bei 21 Cholerakranken 97mal gleichzeitig den agglutinatorischen, bakteriolytischen und opsonischen Serumtiter fest und fand, daß diese drei Serumfunktionen bei ein und demselben Individuum Schwankungen unterworfen sind, welche durchaus nicht immer miteinander parallel verlaufen; wiederholt konnte er bei Kranken nur das Vorhandensein von Bakteriolysinen konstatieren, während die beiden anderen Antistoffe auch bis zum Tod des Individuums nicht nachweisbar wurden.

Ein gleiches voneinander unabhängiges Verhalten konnte Clark (47) im Tierexperiment für Opsonine und Agglutinine dartun. Durch diese Versuche wird auch der Einwand gegenstandslos, daß Opsonine erst in stärkerer Konzentration, als die übrigen Immunkörper wirksam werden sollten; ganz abgesehen davon, daß wir in unserer II. Mitteilung für Paratyphusopsonine und eingangs für Tuberkuloseopsonine zeigen konnten, daß im Gegenteil bei fortschreitender Verdünnung des Serums zunächst die Hämolysine (und Bakteriolysine) und dann erst die Opsonine unwirksam werden.

IV. Normal- und Immunopsonine.

Wright (50—53) und seine Mitarbeiter hatten bereits gefunden, daß sich Normal- und Immunsera bei Erhitzung in ihrem Verlust an opsonischer Kraft quantitativ verschieden verhielten. Während aber Wright aus noch später noch näher zu besprechenden Gründen diese Differenz nur auf die verschiedene Menge der in diesen beiden Serumarten enthaltenen Opsonine zurückführte, glaubten andere Autoren, wie Neufeld und Levaditi und ihre Mitarbeiter darin einen wesentlichen Unterschied zwischen Normal- und Immunopsoninen sehen zu müssen. Sauerbeck sah sich sogar veranlaßt, für die letzteren einen besonderen Namen „Bakteriotropine“ vorzuschlagen. Ganz abgesehen davon, daß eine derartige Unterscheidung zwischen den phagocytosebefördernden Stoffen des Immun- und Normalserums, wie wir noch weiter unten erörtern werden, sachlich nicht gerechtfertigt erscheint, ist dieser Name deswegen nicht besonders glücklich gewählt, weil er lange vorher schon von dem Autor des Wortes Opsonine, **Wright**, als Bezeichnung für alle Serumbestandteile gebraucht worden war, welche wie die Agglutinine und Bakteriolysine eine besondere Affinität zu den Bakterien offenbarten. **Wright** selbst hatte den Ausdruck in Anlehnung an den weiteren Begriff **Ehrlichs** „organotrop“ geprägt. Wir müssen also nach den allgemeinen Regeln der Namengebung an der Bezeichnung „Opsonine“ für phagocytosebefördernde Stoffe sowohl des Normal- wie des Immunserums unbedingt festhalten, zumal **Wright** selbst schon das opsonische Verhalten des Blutserums von Patienten beschrieben hatte, die an einer durch den untersuchten Mikroorganismus hervorgerufenen Krankheit litten, deren Serum also nicht als Normalserum, sondern als Immunserum gegenüber diesem Erreger anzusehen war. Auch die verschiedene Untersuchungsmethodik berechtigt nicht zu einer besonderen Bezeichnung.

Die prinzipielle Trennung der Normalopsonine von den Immunopsoninen stützt sich hauptsächlich auf die vermeintlich größere Thermostabilität der Immunopsonine. Tatsächlich bewahrt nun ein ein hochwertiges Immunserum nach $^1/_2$-stündiger Erhitzung auf 56° noch einen beträchtlichen Teil seiner phagocytosebefördernden Eigenschaft. Würde diese Erscheinung wirklich auf einer besonderen Eigentümlichkeit der Immunopsonine beruhen, so müßte sie auch bei minderwertigen Immunseris zu beobachten sein.

Die Abnahme des Opsoningehalts betrug durchschnittlich:

Tabelle 13.

Mensch		Meerschweinchen	
Normalserum	Tuberkuloseserum	Normalserum	Tuberkuloseserum
88 Proz. (43 Versuche)	90 Proz. (7 Versuche)	43 Proz. (5 Versuche)	42 Proz. (1 Versuch)
83 „ (14 „)	64 „ (6 „)	49 „ (9 „)	— —
27 „ (4 „)	35 „ (9 „)	45 „ (6 „)	53 Proz. (4 Versuche)

Diese Erhitzungsversuche mit geringwertigen Tuberkuloseseris zeigen, daß sich Normal- und Immunopsonine bei $^1/_2$-stündiger Erhitzung auf 56° ungefähr gleich verhalten, und daß bei weiterer Erhitzung die nicht sehr großen Unterschiede durchaus nicht immer für eine größere Thermostabilität der Immunopsonine sprechen.

Die größere Hitzebeständigkeit der opsonischen Kraft hochwertiger Immunsera kann daher nicht auf einer besonderen Eigenschaft der Immunopsonine beruhen; sie ist vielmehr, wie **Wright** und **Reid** gezeigt haben, durch die verschiedene Konzentration der Opsonine im Immun- und Normalserum bedingt.

Wird Immunserum erst verdünnt und dann erhitzt, so leiden die angeblich thermostabilen Immunopsonine beträchtlich, während die Vornahme derselben Prozeduren, in umgekehrter Reihenfolge ausgeführt, bei demselben Immunserum keine wesentliche Beeinträchtigung der Opsonine hervorruft.

V. Das Wesen der Opsonine.

Im vorstehenden haben wir zu zeigen versucht, daß die Opsonine sowohl des Normal- wie des Immunserums mit keinem der bisher bekannten Serumbestandteile identisch sind und daß zwischen Normal- und Immunopsoninen kein prinzipieller, sondern nur ein gradueller Unterschied besteht. Es erhebt sich nun die Frage, welche charakteristischen Eigenschaften ihnen zuzuschreiben sind.

Da die phagocytosebegünstigende Eigenschaft eines Normalserums durch halbstündige Erhitzung auf 56° oder 60° nicht vollkommen aufgehoben wird und da Immunserum durch die gleiche Behandlung eine deutliche Einbuße an opsonischer Kraft erleidet, spricht alles dafür, daß die Begünstigung der Phagocytose weder im Normalserum noch im Immunserum an einen chemisch-physikalisch einheitlichen Bestandteil geknüpft ist. Wir müssen vielmehr annehmen, daß sowohl im Normal- wie im Immunserum mindestens zwei verschiedenen Serumfraktionen die Fähigkeit zukommt, Phagocytose herbeizuführen oder, nach dem herrschenden Sprachgebrauch ausgedrückt: Sowohl im Normal- wie im Immunserum sind mindestens je zwei verschiedene (thermostabile und thermolabile) Opsonine enthalten.

Bezüglich der Wirkungsweise der Opsonine hatten wir uns schon bei den vorstehenden Absorptionsversuchen davon überzeugt, daß der Vorgang sich in zwei Phasen teilen läßt, die der lockeren Absorption und die der erst bei Temperaturen über 0° eintretenden festeren Bindung.

Teilt man die Immunstoffe nach dem Vorgang von Nicolle ganz allgemein in lytische und koagulierend wirkende Körper ein, so muß man wohl die Opsonine zu den letzteren zählen; schon Neufeld und seine Mitarbeiter haben die Erscheinung beobachtet, daß in einem Bacillen-Leukocyten-Serumgemisch, in welchem das Serum phagocytosebegünstigende Eigenschaften besaß, die Leukocyten zur Verklumpung neigen. Wir haben regelmäßig in Kapillaren, in denen eine starke Phagocytose unter dem Einfluß opsonisch wirksamen Serums vor sich ging, beobachten können, daß sich die Leukocyten dicht gedrängt strichweise entlang der tiefsten Stelle der wagrecht liegenden Kapillare anordneten, während dies bei inaktiviertem Serum nicht in diesem ausgesprochenen Maße der Fall war. Ueber den Vorgang der Phagocytose möchten wir vorläufig nichts weiter aussagen, als daß ihr eine Annäherung zwischen Bakterien und Leukocyten vorausgeht.

VI. Antiopsonine.

Im Laufe der oben wiedergegebenen Versuche war es schon aufgefallen, daß bei Zusammenbringen von erhitztem und frischem Serum die erwartete Reaktivierung des inaktivierten Serums zumeist nicht nur nicht eintrat, sondern daß häufig die phagocytäre Kraft eines derartigen Serumgemisches geringer war, als die der beiden Sera allein. Es schien uns der Mühe wert, diesem Antagonismus experimentell näherzutreten.

1. Nachweis der Existenz von Antiopsoninen.

Zusatz von frischem Serum zu homologem frischen Serum vermehrt die Phagocytose, d. h. frisches Serum wirkt nicht antiopsonisch auf frisches Serum. Wenn ein Serum tatsächlich durch Erhitzung die Fähigkeit erwirbt, antiphagocytär zu wirken, so ist zu erwarten, daß es innerhalb gewisser Grenzen konzentriert stärker antiphagocytär wirkt, als verdünnt; dies ist tatsächlich der Fall.

Tabelle 14.

Normales Meerschweinchen- + erhitztes (60°) Meerschweinchenserum in steigenden Verdünnungen.

Versuch	Grad der Verdünnung	konzentriert	1:10	1:50	1:100	1:500	
No. 6	Phagocytärer Index	1,28	2,8	3,62	5,0	4,5	(**Phagocytärer Index bei frischem Serum = 5,5**)

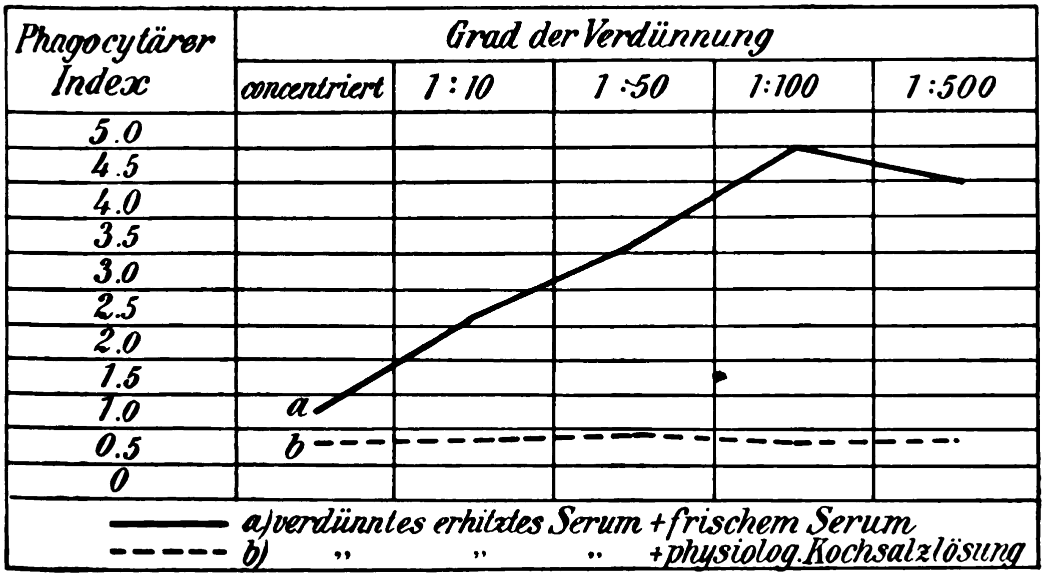
Ein gleiches Verhalten wurde in 15 Präparaten beobachtet, bei welchen auf 56° oder 60° erhitztes menschliches Serum in verschiedenen Verdünnungen mit frischem unverdünnten Serum zusammengebracht war.

Setzt man dagegen in obigen Versuchen an Stelle des normalen frischen Serums Kochsalzlösung zu den absteigenden Verdünnungen des erhitzten Serums, so ergibt sich, wie ja von vornherein zu erwarten, kein Ansteigen, sondern eher ein Fallen der opsonischen Werte.

Tabelle 15.
Physiologische Kochsalzlösung + erhitztes Serum in steigenden Verdünnungen.

Versuch	Grad der Verdünnung	Konzentriert	1:10	1:50	1:100	1:500
6	Phagocytärer Index	0,94	0,9	0,96	0,84	0,9
14	dgl.	0,3	0,03	0,0		

Stellt man das opsonische Verhalten absteigender Verdünnungen erhitzten Serums, je nachdem man entweder ein Volumen physiologischer Kochsalzlösung oder das gleiche Volumen frischen homologen Normalserums hinzugefügt hat, so erhält man folgendes Bild:



Diese Erscheinungen können kaum anders erklärt werden, als durch die Annahme, daß ein Serum durch Erhitzung wirklich antiphagocytäre Eigenschaften erwirbt.

2. Wirkungsmechanismus der Antiopsonine.

Die Antiopsonine, deren Vorhandensein im erhitzten Serum wir soeben bewiesen zu haben glauben, könnten theoretisch in den Bacillen, den Leukocyten oder im frischen Serum ihren Angriffspunkt haben.

Richten sich die Antiopsonine des erhitzten Serums gegen die Bacillen, so könnte man sich ihre Wirkungsweise nach Art der Agglutinoide vorstellen, eine Annahme, welche tatsächlich von Hektoen und Ruediger (5) gemacht wird. Auch wir fanden wiederholt, daß Bacillen, welche mit erhitztem Serum vorbehandelt waren, in Gegenwart von frischem Serum schlechter phagocytiert werden, als unbehandelte Bacillen. Ob aber diese Erscheinung auf einer Opsonoidwirkung beruht, möchte uns zweifelhaft erscheinen, da die Unterschiede nicht immer sehr erheblich waren, und da bei derartigen Versuchen nur große Ausschläge verwertet werden dürfen; denn bekanntlich steht die Zahl der aufgenommenen Bacillen in direktem Verhältnis zu der Dichte der Bacillenemulsion, und die zu einem derartigen Versuch notwendigen zwei verschiedenen Bacillenemulsionen dürfen auch bei Gebrauch eines Nephelometers nach Mc Farland (60) nur als annähernd gleich dicht angesehen werden.

Eine Opsonoidwirkung würde im Sinne der Ehrlichschen Theorie dadurch zustande kommen, daß die Opsonoide die Rezeptoren der Bakterien besetzen und dadurch die ausschließlich wirksamen Opsonine fernhalten; wenn diese Anschauungsweise bezüglich der phagocytosehemmenden Wirkung des erhitzten Serums zuträfe, so müßte die Phagocytosehemmung bei Verwendung verdünnter Sera aufgehoben oder doch erheblich herabgesetzt sein, da in diesem Falle noch genügend Rezeptoren als Angriffspunkte für die unbeschädigten Opsonine frei sein würden.

Tabelle 16.

Normales Menschenserum.

Versuchsnummer	I frisch		II erhitzt		I + II
	Verdünnung	Phagocytärer Index	Verdünnung	Phagocytärer Index	Phagocytärer Index
14	1/10	0,4	1/10	0,03	0,43
14	1/10	0,4	1/50	0,0	0,43
15	1/10	2,0	1/10	0,25	1,4
16	1/10	2,1	1/10	0,2	2,0
17	1/10	2,5	1/10	0,4	1,73
19	1/10	4,1	1/10	0,3	0,7
77	1/10	1,8	1/10	0,3	0,7
Normales Meerschweinchenserum.					
1	1/10	2,42	1/10	1,25	1,2
1	1/50	1,25	1/10	1,25	1,2
1	1/100	0,6	1/10	1,25	0,7
3	1/10	2,2	1/10	1,75	1,44
3	1/50	1,9	1/10	1,75	0,8
3	1/100	1,3	1/10	1,75	0,8
4	1/10	0,96	1/10	0,8	1,06
4	1/50	0,8	1/10	0,8	1,06
4	1/100	0,7	1/10	0,8	0,92
6	1/10	3,24	1/10	0,9	2,22
4	1/100	0,7	1/50	0,7	0,8
6	1/50	2,6	1/10	0,9	0,9
6	1/50	2,6	1/50	0,96	1,04
6	1/100	1,6	1/50	0,96	0,9
6	1/10	3,24	1/100	0,84	2,5
6	1/50	2,6	1/100	0,84	1,04
6	1/100	1,6	1/100	0,84	1,4
6	1/10	3,24	1/500	0,9	2,68
6	1/50	2,6	1/500	0,9	1,26
5	1/10	2,64	1/10	2,3	1,3
5	1/50	1,96	1/10	2,3	1,36
5	1/100	1,5	1/10	2,3	1,08
5	1/100	1,5	1/50	1,1	1,4

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß sowohl erhitztes menschliches, wie erhitztes Meerschweinchenserum noch in Verdünnungen antiopsonisch wirkt, bei denen an eine Besetzung aller Rezeptoren der Bakterien und an eine daraus folgende Fernhaltung der Opsonine garnicht gedacht werden kann. Der phagocytosebehindernde Einfluß erhitzten Serums kann also nicht als Opsonoidwirkung gegen die Bakterien gerichtet sein.

Die Leukocyten kommen als Angriffspunkt der antiopsonischen Wirkung kaum ernstlich in Betracht, da, wie aus Tabelle 1 hervorgeht, erhitztes Serum für sich allein die Phagocyten ausgesprochen begünstigt.

Endlich schließt noch die Tatsache, daß erhitztes Serum, vergleichsweise zur physiologischen Kochsalzlösung, die Aufnahme von Bakterien durch Leukocyten befördert, die Annahme aus, daß der antiopsonische Einfluß erhitzten Serums sich gegen die Bakterien oder gegen die Leukocyten richtet.

Da der antiopsonische Einfluß erhitzten Serums nur in die Erscheinung tritt, wenn gleichzeitig frisches Serum vorhanden ist, kann nach alledem die phagocytosehemmende Wirkung erhitzten Serums wohl nur im frischen Serum ihren Angriffspunkt finden; und da der hier allein in Betracht kommende Unterschied zwischen frischem und erhitztem Serum allein in der Vernichtung der thermolabilen Opsonine zu sehen ist, muß sich die antiphagocytäre Wirkung erhitzten Serums gegen die thermolabilen Opsonine des frischen Serums wenden.

Will man also, dem allgemeinen Sprachgebrauch folgend, und aus Gründen der prägnanteren Ausdrucksweise die phagocytosehemmende Wirkung, welche ein Serum durch Erhitzung erwirbt, gewissen chemisch undefinierten Serumbestandteilen zuschreiben, so muß man diese Serumbestandteile als Antiopsonine ansprechen, da sie gegen die Opsonine und nicht etwa gegen die Bakterien oder Leukocyten gerichtet sind.

3. Entstehung der Antiopsonine.

Es schien zunächst notwendig, der Frage näherzutreten, ob schon niedrigere Temperaturen als 56° und 60° bei 30 Minuten langer Einwirkung die Entstehung von Antiopsoninen herbeiführen können. Leider konnten auch diese Versuche nur in beschränktem Umfange ausgeführt werden.

Tabelle 17.

Normales menschliches Serum.

Versuchsnummer	I Erhitzt	II Frisch	I + II
	a) auf 51°		
57	0,95	1,56	2,0
57	0,9	1,56	1,9
	b) auf 53°		
Grenz- werte 58	0,3	0,54	0,26
Grenz- werte 46	1,06	4,0	3,0
Gesamtdurchschnitt (10 Versuche)	0,48	1,14	0,95
	c) auf 56°		
Grenzwerte Versuchsnummer			
57	0,3	1,56	0,85
60	0,3	0,6	0,8
Gesamtdurchschnitt (10 Versuche)	0,32	1,14	1,01

Bei diesen Versuchen stammten die frischen und erhitzten Sera nicht immer von denselben Individuen.

Die Versuche zeigen, daß ein Serum bei 30 Minuten langer Erhitzungsdauer erst antiopsonisch wird, wenn die Temperatur 51° überschreitet.

Zerstörung der Opsonine und Entstehung von Antiopsoninen gehen also unter Hitzewirkung unmittelbar ineinander über, ohne daß es gelingt, durch Erhitzung ein Serum derart zu beeinflussen, daß es nicht mehr opsonisch und noch nicht antiopsonisch wirkt. Im Gegensatz hierzu steht das Verhalten der Präzipitine. **Welsh** und **Chapman** (61) konnten dartun, daß ein 30 Minuten bei 72° erhitztes Serum nicht mehr präzipitiert, aber auch nicht die Präzipitation durch ein anderes Serum hindert, während ein auf 75° erhitztes Serum zwar auch nicht präzipitierend, wohl aber die Präzipitation hemmend wirkt.

4. Antiopsonine und Hitze.

Mit steigender Temperatur kann die phagocytosehemmende Wirkung des erhitzten Serums zunehmen.

Tabelle 18.

Normales menschliches Serum.

Grenzwerte Versuchsnummer	I frisch	II erhitzt auf 65°	I + II
68	0,75	0,02	0,1
74	0,4	0,06	0,3
Gesamtdurchschnitt von 14 Versuchen	0,62	0,03	0,24

Versuche über den Einfluß höherer Temperaturen auf die Antiopsonine fehlen, jedenfalls werden sie bei 75° noch nicht unwirksam.

5. Antiopsonine und Verdünnung.

Aus den auf p. 157 wiedergegebenen Versuchen geht hervor, daß erhitztes Serum auch noch bei einer Verdünnung von 1 : 500 einen deutlichen phagocytosehemmenden Einfluß ausübt, wenn man es mit der Wirkung physiologischer Kochsalzlösung vergleicht. Weitergehende Verdünnungen wurden nicht geprüft.

6. Antiopsonine und Dialyse.

Bei den in Tabelle 7 mitgeteilten Versuchen war festgestellt worden, daß bei Dialyse gegen physiologische Kochsalzlösung die Opsonine des Normalserums zum Teil unwirksam werden.

Es mußte von Interesse sein, zu untersuchen, ob dialysiertes Serum entsprechend dem durch Hitze opsonisch geschädigten Serum antiopsonische Wirksamkeit erworben hatte.

Tabelle 19.

Normales menschliches Serum.

Versuchsnummer	I frisch	II dialysiert gegen 0,85-proz. NaCl	Dauer der Dialyse	I + II
40	2,38	0,4	(2 Tage)	2,7
46	4,0	1,0	(4 „)	2,75
47	2,5	1,3	(5 „)	1,92
48	3,0	0,1	(7 „)	3,2 (+)
48	3,0	0,22	(3 „)	2,9
50	2,85	0,1	(5 „)	1,96
77	2,7	0,2	(5 „)	2,5
39	5,8	0,21	(30 Stunden)	4,9

Frisches und dialysiertes Serum stammten nicht in allen Fällen von denselben Individuen.

Mit Ausnahme eines Versuches (+), in welchem das Serumgemisch einen etwas höheren phagocytären Index zeigte, als die Summe der beiden Komponenten, gab frisches Serum, wenn es mit dialysiertem Serum (I + II) versetzt wurde, etwas niedrigere Werte, als wenn ihm physiologische Kochsalzlösung (I) zugefügt war. Ein ausgesprochenes Sinken des phagocytären Wertes ist jedoch hier nicht in dem Maße zu beobachten, wie beim Zusammentreffen von frischem und erhitztem Serum.

Die früheren Dialyseversuche hatten, wie schon erwähnt, ergeben, daß die zur Dialyse benutzte physiologische Kochsalzlösung außerhalb des Kollodium- oder Schilfsäckchens keine opsonischen Eigenschaften erwirbt. Da nun aber das innerhalb des Säckchens befindliche Serum an opsonischer Kraft einbüßt, mußte festgestellt werden, ob vielleicht die Kochsalzlösung auf der anderen Seite der dialysierenden Membran eine Veränderung bezüglich ihres Verhaltens zur Phagocytose erfährt oder ob sie sich ebenso verhält, wie gewöhnliche physiologische Kochsalzlösung. Zur Entscheidung dieser Frage wurde frisches menschliches Serum einmal mit gewöhnlicher physiologischer Kochsalzlösung versetzt, das andere Mal mit solcher, die zum Dialyseversuch Verwendung gefunden hatte. Auch hier, wie in den übrigen Dialyseversuchen, wurde die als Kontrolle dienende Kochsalzlösung unter den gleichen Bedingungen der Temperatur und Verdunstung gehalten, wie die bei der Dialyse verwandte.

Tabelle 20.

Frisches menschliches Serum.

Grenzwerte Versuchsnummer	I Zur Dialyse benutzte Kochsalzlösung	Dauer der Dialyse	II Gewöhnliche Kochsalzlösung, phagocytärer Index
39	2,5	(30 Stunden)	5,18
25	3,2	(1 Stunde)	3,86
Gesamtdurchschnitt von 23 Versuchen	1,36		2,62

Tatsächlich verhält sich also die zur Dialyse von Normalserum benutzte Kochsalzlösung opsonisch anders als gewöhnliche Kochsalzlösung, indem sie die Phagocytose deutlich hindert und den phagocytären Index fast auf die Hälfte herabdrückt. Mit der Dauer der Dialyse nahm auch der antiopsonische Einfluß der Kochsalzlösung zu.

Um sicherzustellen, daß die in der Kochsalzlösung aufgetretenen phagocytosehemmenden Stoffe tatsächlich aus dem dialysierten Serum stammten und nicht etwa von der dialysierenden Membran als solcher herrührten, wurde noch folgender Versuch vorgenommen: Ein kleiner Kollodiumsack wurde in 2 Hälften geschnitten und die eine mit 0,15 ccm Serum beschickt; darauf kamen beide Hälften für $2^3/_4$ Stunden in physiologische Kochsalzlösung. Zur Prüfung wurde frisches menschliches Serum

1) mit frischer Kochsalzlösung,
2) mit der Kontrollkochsalzlösung (leerer Kollodiumsack),
3) mit der zu prüfenden Kochsalzlösung (mit Serum beschickter Kollodiumsack) versetzt und folgende Werte des phagocytären Index gefunden: 1) = 1,93; 2) = 1,96; 3) = 1,16.

Hiernach wird also die in den obigen Versuchen gefundene antiopsonische Wirkung der zur Dialyse benutzten Kochsalzlösung nicht auf die Abgabe hemmender Bestandteile seitens der dialysierenden Membran hervorgerufen. Die antiopsonische Wirkung der Kochsalzlösung muß vielmehr durch Stoffe erzeugt werden, welche aus dem dialysierten Serum durch die Membran hindurch in die Kochsalzlösung übertreten.

7. Reaktionsgeschwindigkeit der Antiopsoninwirkung.

Wenn die von uns bisher vertretene Anschauung zutraf, daß die phagocytosehemmende Wirkung des erhitzten Serums sich nicht gegen die Bakterien oder Leukocyten, sondern direkt gegen die Opsonine des Blutserums richtet, so war es nicht ausgeschlossen, daß die antiopsonische Wirkung des erhitzten Serums durch längeren Kontakt mit dem frischem Serum verstärkt wird.

Tabelle 21.

Menschliches Serum.

Versuchsnummer	Frisch	Frisch + sofort	Erhitzt 56° nach längerem Kontakt	Dauer des Kontakts	Temperatur während des Kontakts	Verdünnung des erhitzten Serums
25	3,86	2,7	1,03	19 Std.	11—15°	1:1
25	3,86	2,03	3,3	19 „	11—15°	1:10
25	3,86	3,93	2,66	19 „	11—15°	1:100
26	2,66	1,43	0,36	1/4 „	11—15°	1:1
27	1,53	1,3	0,8	1/4 „	11—15°	1:1
106	3,23	1,07	2,3	30 „	37°	1:1
			1,93	30 „	10—15°	1:1
			0,9	15 „	10—15°	1:1
107	8,0	6,33	6,83	30 „	37°	1:1
			6,5	30 „	10—15°	1:1

Aus diesen wenigen Versuchen geht hervor, daß tatsächlich bei vorausgegangener Mischung von frischem und erhitztem Serum der phagocytäre Index zunächst niedriger ist, als wenn beide Sera erst bei der opsonischen Prüfung des Serumgemisches in Berührung kommen; die Versuche zeigen aber auch, daß bei länger dauerndem Kontakt von frischem und erhitztem Serum, besonders bei höherer Temperatur (37°), das vorher unwirksam gewordene Opsonin zum Teil wieder wirksam wird.

8. Normal- und Immunantiopsonine.

Zum Verständnis der Antiopsoninwirkung des erhitzten Serums schien es zunächst wünschenswert, festzustellen, ob die Stärke des antiopsonischen Effekts wechselt, je nachdem erhitztes Normal- oder erhitztes Immunserum genommen wird und ferner ob frisches Normal- und frisches Immunserum in gleicher Weise durch erhitztes Serum beeinflußt werden.

Tabelle 22.

Menschliches Serum.

Phagocytärer Index	I Normal frisch	II Normal erhitzt 56°	III Tuberkulös erhitzt 56°	I + II	I + III
Durchschnitt v. 20 Versuchen	2,97	0,28	0,27	2,08	1,60

Aus dieser Versuchsreihe, deren ausführliche Protokolle ebenfalls in der ausgeführten Dissertation von A. E. Porter enthalten sind, geht also hervor, daß, wenn man zu frischem Normalserum anstelle von physiologischer Kochsalzlösung die gleiche Menge inaktivierten Normalserums setzt, ein Opsoninverlust von 36 Proz. gegenüber der rechnerisch ermittelten Summe der Einzelkomponenten eintritt und daß dieser Verlust auf 51 Proz. steigt, wenn man nicht inaktiviertes Normalserum, sondern inaktiviertes Serum von tuberkulösen Patienten verwendet. Demnach besitzt das inaktivierte tuberkulöse Serum bedeutend mehr gegen die Opsonine des frischen Normalserums gerichtete Antiopsonine als das inaktivierte Normalserum selbst.

Läßt man die Antiopsonine des inaktivierten Normalserums und des inaktivierten tuberkulösen Serums nicht auf die Opsonine des frischen Normalserums, sondern auf die des frischen Immunserums einwirken, so ist der Unterschied zwischen den beiden inaktivierten Seris erheblich geringer, wie folgender Auszug aus unseren Protokollen lehrt.

Tabelle 23.

Menschliches Serum.

Phagocytärer Index	I Tuberkulös frisch	II Tuberkulös erhitzt 56°	III Normal erhitzt 56°	I + II	I + III
Durchschnitt v. 5 Versuchen	3,91	0,3	0,39	1,39	1,51

Der phagocytäre Index des tuberkulösen Patientenserums wird also, wenigstens in dieser Versuchsreihe, durch Zusatz von inaktiviertem Normalserum um 65 Proz. und durch solchen von inaktiviertem tuberkulösen Serum um 67 Proz. herabgesetzt.

Da, wie aus den voraufgehenden Versuchen zu folgern ist, das inaktivierte tuberkulöse Serum erheblich mehr Antiopsonine als das inaktivierte Normalserum enthält, kann im Hinblick auf den letzten Versuch nur der Schluß gezogen werden, daß die Opsonine des tuberkulösen Serums der Wirkung der Antiopsonine weniger unterliegen als die Opsonine des Normalserums.

Der stärkere antiopsonische Einfluß des erhitzten tuberkulösen Serums auf die Opsonine des frischen Normalserums ist in allen (20) Versuchen so überraschend deutlich zutage getreten, daß wir vorschlagen möchten, diese Versuchsanordnung zur opsonischen Differentialdiagnose zwischen normalen und tuberkulösen Blutseris heranzuziehen.

Der opsonische Index für Tuberkelbacillen schwankt nämlich nach den von uns und Krencker (1 u. 62) veröffentlichten Arbeiten bei allgemeiner Tuberkulose, welche ja im Anfangsstadium differentialdiagnostisch häufig die größten Schwierigkeiten bereiten kann, derartig um die als normal anzusehenden Werte von 0,8—0,2 herum, daß eine erstmalige Bestimmung gar nicht selten Zahlen ergibt, welche innerhalb dieser Grenzen liegen. Wiederholte Bestimmungen ergaben zwar in solchen Fällen wohl ausnahmslos, daß das opsonische Pendel während der ersten Feststellung nur auf dem Durchgang durch die Normalwerte begriffen war und bei der Wiederholung der opsonischen Probe Werte anzeigt, die unter- oder oberhalb der Normalzahlen liegen. Aber in Fällen, wo die von uns früher geforderte systematisch wiederholte Opsoninbestimmung aus irgendwelchen Gründen nicht ausführbar oder wo eine möglichst rasche Sicherstellung der Diagnose angezeigt ist, scheint die „Antiopsoninprobe“ ein wertvolles Hilfsmittel der Diagnostik werden zu können.

Die Ausführung der Antiopsoninprobe würde sich derart gestalten, daß von dem zu untersuchenden Serum und dem als Kontrolle dienenden Normalserum je 1 Teil in zugeschmolzenen Kapillaren 30 Minuten lang im Wasserbad auf 56° erhitzt werden. Darauf fertigt man mit den zwei frischen und den zwei erhitzten Seris unter Hinzufügen eines Teiles physiologischer Kochsalzlösung 4 Präparate an; in 4 weiteren Präparaten wird die Kochsalzlösung in je 2 Kapillaren durch je eines der erhitzten Sera ersetzt. Der Ausfall eines derartigen Versuches ließe sich, falls es sich um ein tuberkulöses Serum handelt, nach unseren oben wiedergegebenen Experimenten schematisch etwa folgendermaßen wiedergeben:

Tabelle 24.

	I frisch + NaCl	II erhitzt + NaCl	III frisch + a) erhitzt	IV frisch + b) erhitzt
a) **Normalserum**	x	x—88	Ia + IIa—36	Ia + Ib—51
b) **Tuberkuloseserum**	y	y—72	Ib + IIa—65	Ia + Ib—67

Für praktische Zwecke dürfte die Herstellung der Präparate Ia, Ib, IIIa und IVa genügen, da hierbei die Unterschiede zwischen normalem und tuberkulösem Serum am deutlichsten in die Erscheinung treten. Es wären also nur beide Sera frisch zu untersuchen und außerdem das frische Normalserum nach Zusatz von erhitztem Normalserum oder von erhitztem Patientenserum. Falls es sich um Tuberkulose handelt, würde der Zusatz von erhitztem Patientenserum zu dem frischen Normalserum eine bedeutend stärkere Herabsetzung des phagocytären Index hervorrufen, als der Zusatz des erhitzten Normalserums zu dem gleichen frischen Normalserum.

9. Ursprung der Antiopsonine.

Wie wir gezeigt haben, entstehen Antiopsonine bei Erhitzung frischen Serums auf 56° und höher. Da bei der gleichen Temperatur die thermolabilen Opsonine unwirksam werden, drängt sich zunächst die Annahme auf, daß das Antiopsonin aus dem Opsonin entsteht. Bei näherer Betrachtung jedoch verliert diese Anschauung einigermaßen an Wahrscheinlichkeit. Würde sich das Antiopsonin aus dem thermolabilen Opsonin bilden, so müßte ein Serum nach der Erhitzung um so stärker antiopsonisch wirken, je mehr thermolabile Opsonine es besitzt; es müßte also ein erhitztes Normalserum stärker antiopsonisch wirken als ein erhitztes Immunserum; wie wir gesehen haben, entspricht aber gerade das Umgekehrte den Tatsachen, denn das erhitzte tuberkulöse Serum ist stärker antiopsonisch als das thermolabilere Normalserum nach der Erhitzung.

Eine zweite Erklärungsmöglichkeit für das antiopsonische Verhalten erhitzten Serums scheint in der Voraussetzung zu liegen, daß das Antiopsonin von vornherein in dem frischen Serum enthalten ist, aber durch das gleichzeitig und zwar im Ueberschuß vorhandene labile Opsonin verdeckt wird; das Antiopsonin könnte dann erst nach Zerstörung des thermolabilen Opsonins nachgewiesen werden.

So annehmbar auch diese zweite Hypothese der Antiopsoninwirkung auf den ersten Blick erscheint, so unhaltbar wird sie, wenn wir uns die eingangs angeführten Dialyseversuche noch einmal vergegenwärtigen. Wie die Versuche zeigten, wird physiologische Kochsalzlösung, gegen welche frisches Meerschweinchen- oder Menschenserum dialysiert wird, antiopsonisch. Nimmt man nun an, daß im frischen Serum Antiopsonine enthalten sind, welche durch die dialysierende Membran in die Kochsalzlösung übergehen, so müßte die Phagocytose befördernde Kraft des dialysierten Normalserums steigen, dies trifft aber nicht zu; vielmehr verliert das Serum während der Dialyse an opsonischem Vermögen. Für die Annahme, daß das nach Entfernung der Antiopsonine etwa frei werdende labile Opsonin von der dialysierenden Membran absorbiert wird, liegen keine Anhaltspunkte vor.

Nach Ablehnung der beiden ersten Theorieen über die Antiopsoninbildung scheint uns nur noch die Annahme möglich, daß das Antiopsonin im frischen Serum in einer unwirksamen Modifikation (Proantiopsonin) enthalten ist, welche durch verschiedene Maßnahmen, wie Erhitzung und Dialyse, aktiviert wird. Die Entstehungsweise des Antiopsonins könnte demnach mit der des Antitrypsins und Antipepsins in Parallele gesetzt werden. Pollak (39) wies nach, daß gekochte Trypsinlösungen die Wirkung frischer Trypsinlösungen stark hemmen und daß dieses Antitrypsin erst beim Erhitzen entsteht. Blum und Fuld (63) konnten durch vorherige Entfernung des Pepsins dartun, daß das nach der Erhitzung nachweisbare Antipepsin nicht etwa eine Modifikation des Pepsins selbst darstellt. Analoge Versuche mit Serum, welches nach Absorption seiner Opsonine erhitzt und dann auf seine antagonistische Fähigkeit geprüft wurde, haben wir nur vereinzelt vornehmen können.

Wird tatsächlich durch die Dialyse ebenso wie durch Erhitzung ein Proantiopsonin aktiviert, so muß ein Teil des entstehenden Antiopsonins auch auf die innere Seite der dialysierenden Membran abgegeben werden. Hierdurch wäre das Sinken des phagocytären Index des dialysierten Serums erklärt. Aus den in Tabelle 19 wiedergegebenen Versuchen geht

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

hervor, daß dialysiertes Serum ähnlich wie erhitztes, wenn auch nicht so ausgesprochen stark, antiopsonisch wirkt. Das in einer unwirksamen Modifikation vorhandene Antiopsonin des frischen Serums wird also sowohl durch Erhitzung wie durch Dialyse aktiviert.

10. Wesen der Opsonin- und Antiopsoninwirkung.

Die Höhe des phagocytären Index ist unter sonst gleichen Bedingungen proportional der Dichte der Bakterienaufschwemmung. Untersucht man zwei Sera von verschieden starker opsonischer Kraft, so tritt innerhalb gewisser Grenzen der Unterschied zwischen beiden zutage, gleichgültig, ob man eine dichte oder eine dünne Bakterienemulsion verwendet hat. Würde der endgültige phagocytäre Effekt auf einer Besetzung von Bakterienrezeptoren durch die Opsonine beruhen, so wäre wohl zu verstehen, daß bei dichter Emulsion die in einem schwach opsonisch wirkenden Serum vorhandenen Opsonine nicht ausreichen, um alle vorhandenen Rezeptoren zu besetzen und dadurch alle Bakterien der Phagocytose zugänglich zu machen; es wäre nur natürlich, daß das stärkere opsonische Serum eine gesteigerte Aufnahme von Bacillen in Leukocyten herbeiführt; es wäre aber unerklärlich, warum der Unterschied zwischen der Wirkungsweise der beiden Sera auch bei Verwendung einer sehr dünnen Emulsion fortbestehen sollte, da hier theoretisch schon der Opsoningehalt des schwachen Serums zur Besetzung aller Bakterienrezeptoren ausreichen müßte.

Es hat vielmehr den Anschein, als ob zwischen dem auf die Bakterien fixierten Opsonin und zwischen dem freien Opsonin ein bestimmtes Verhältnis besteht. Nach den Gesetzen der physikalischen Chemie werden Stoffe aus Lösungen oder Suspensionen von fester Oberfläche nach der Formel $C_1 = KC_2^n$ aufgenommen, wobei C die Konzentration des Gelösten in der Flüssigkeit, C_2 die Konzentration in der Oberfläche und n und K Konstanten darstellen, deren Größe von der Natur der reagierenden chemischen Substanzen abhängt. Ist $n > 1$ und eine Gesamtkonzentration $CA > CB$, dann ist die Differenz zwischen C_1A und C_2A auch größer als zwischen C_1B und C_2B. Eine derartige Betrachtungsweise scheint uns die erwähnte, von der Dichte der Bakterienemulsion in gewissen Grenzen unabhängige Differenz zwischen einem stark und einem schwach opsonischen Serum eher dem Verständnis näherzubringen als die Annahme von chemisch aufzufassenden Zellrezeptoren.

Das thermolabile Opsonin unterscheidet sich von dem thermostabilen nicht nur durch die geringere Haltbarkeit außerhalb des Organismus und die verminderte Widerstandsfähigkeit gegen höhere Temperaturen, sondern auch dadurch, daß allein dieses der Wirkung des Antiopsonins unterworfen ist. Wäre auch das thermostabile Opsonin durch Antiopsonin neutralisierbar, so müßte erhitztes Serum nicht nur für frisches Serum, sondern auch für erhitztes Serum antagonistisch wirken; dies ist jedoch nicht der Fall.

Das Antiopsonin geht mit dem thermolabilen Opsonin eine dissoziierbare Verbindung ein; wie wir oben gesehen haben, wird bei länger dauerndem Kontakt zwischen frischem und erhitztem Serum allmählich wieder Opsonin frei; das Opsonin wird also durch das Antiopsonin nicht zerstört, sondern nur vorübergehend unwirksam gemacht.

Ein gleiches Verhalten konnten **Blum** und **Fuld** (63) für Pepsin und Antipepsin, **Dastre** und **Stassano** (64) für Trypsin und Antitrypsin, **Spiro** (42) für Lab und Antilab dartun. Auch sonst finden sich zwischen Opsoninen und Fermenten Analogieen; beide können in

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Lösungen durch Hitze zerstört werden, dagegen in trockenem Zustande Temperaturen von über 100° ertragen; die Verbindungen der Opsonine und der Fermente mit ihrem Substrat sind hitzebeständiger als Opsonine oder Fermente für sich (Wrightscher Grundversuch), beide können durch Niederschläge irgendwelcher Art absorbiert werden; Natriumnitrat macht beide vorübergehend unwirksam [Hamburger und Hekma (25), Bordet (66)]; die Gegenwart von Elektrolyten ist für die spezifische Wirkungsweise beider erforderlich. Wie die Fermente, so beschleunigen auch die Opsonine einen Vorgang, der ohne sie erst ganz allmählich eintritt [Löhlein (19)]. Der oben geschilderte Einfluß von Säure auf das Opsonin findet sich auch bei diastatischen Fermenten wieder.

VII. Opsonine, Antiopsonine und Immunität.

Im Gegensatz zu manchen anderen Immunstoffen ist es für die Opsonine durch die Arbeiten von Metschnikoff, Denys und Leclef und vielen anderen als erwiesen anzusehen, daß sie auch im lebenden Organismus ihre Wirkung entfalten. Eine Erörterung der Frage nach der allgemeinen Bedeutung der Opsonine für die Immunität überhaupt würde außerhalb des Rahmens unserer Arbeit fallen.

Der experimentelle Nachweis des Vorhandenseins und der Wirkung der Antiopsonine im Organismus steht noch aus. Da aber Antiopsonin nicht nur bei höheren Temperaturen, sondern auch bei Dialyse von Serum gegen physiologische Kochsalzlösung gebildet wird, scheinen auch im Körper die Entstehungsbedingungen für das Antiopsonin gegeben zu sein. Dringen Bakterien in den Körper ein, so müssen sich im gegebenen Falle die etwa vorhandenen Opsonine mit den Bakterien verbinden; es läßt sich sehr wohl vorstellen, daß die Bakterien als Ganzes oder ihre Oberfläche ebenso wie die dialysierende Membran in unseren Versuchen die Aktivierung der Antiopsonine bewirken, welche dann in in das Blutplasma übertreten. Bei vermehrter Blutzirkulation werden die Antiopsonine vom Infektionsherde fortgeführt, während sie im umgekehrten Falle, z. B. bei Cavernen, Gangrän etc., an Ort und Stelle nliege bleiben, den Fortgang der Phagocytose unterbrechen und so dem Fortschreiten der Infektion Vorschub leisten.

In Uebereinstimmung mit dieser Anschauung von der Entstehung des Antiopsonins im Organismus scheint die von Wright (11) gefundene Tatsache zu stehen, daß in lokalen Krankheitsherden der opsonische Index erniedrigt ist. Wahrscheinlich liegt jedoch hier keine reine Antiopsoninwirkung vor, sondern die an Ort und Stelle gebildeten Bakterienprodukte sind für die verminderte Phagocytose mit verantwortlich zu machen.

Hektoen (67), Weil und Braun, Nagayama und Tsuda (68), Levy und Fornet (69 und 71) u. a. haben nämlich gezeigt, daß Filtrate von Bakterienkulturen die Phagocytose erschweren, und zwar durch Einwirkung auf die Leukocyten. Es wäre lohnend, festzustellen, welchen Anteil an der Erzeugung des „herabgesetzten bakteriotropen Druckes in lokalen Krankheitsherden (Wright)“ die Antiopsonine und die antiphagocytär wirkenden Bakterienprodukte nehmen.

Auch sonst liegen bisher noch keine Untersuchungen über die Verbreitung und Wirkungsweise der Antiopsonine im Organismus vor. Es scheint nicht unwahrscheinlich, daß die von Krencker, uns u. a. festgestellten andauernden Schwankungen des opsonischen Index bei Patienten mit fortschreitender Tuberkulose auf ununterbrochener Bildung und Neutralisierung von Opsoninen einerseits und Antiopsoninen andererseits beruhen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle 25.

Versuche über Phagocytosebehinderung durch Bakterienprodukte.

Versuchsnummer	Phagocytärer Index	2 Teile Kochsalzlösung	1 Teil Kochsalzlösung + 1 Teil Kulturfiltrat (Tuberkulose)
7		0,88	0,24
8		0,62	0,42
8		0,62	0,38

Versuchsnummer	Phagocytärer Index	1 Teil frisches Serum + 1 Teil Kochsalzlösung	1 Teil Kulturfiltrat + 1 Teil Kochsalzlösung	1 Teil frisches Serum + 1 Teil Kulturfiltrat
7		3,48	0,24	1,02
8		2,06	0,42	0,52
8		2,8	0,42	0,46
29		5,5	—	2,1
29		4,25	—	2,85
30		2,8	—	1,53
32		1,83	—	1,5
8		2,06	0,38	0,9
8		2,8	0,38	0,74

Ueber den von Wright (72) und Wiens (73) angedeuteten Zusammenhang zwischen Opsonin und dem proteolytischen Antiferment von Müller und Jochmann, sowie über die Beziehung des letzteren zu unserem Antiopsonin bedarf es noch weiterer Untersuchungen.

Zusammenfassung.

1) Die Opsoninbestimmung nach Wright verleiht gewissen im Serum sich abspielenden Verhältnissen einen adäquaten zahlenmäßigen Ausdruck.

2) Der opsonische Index nicht tuberkulöser Individuen schwankt nur innerhalb enger, bekannter Grenzen.

3) Patienten mit fortschreitender Tuberkulose zeigen wohl ausnahmslos einen von einem Extrem zum anderen schwankenden opsonischen Index, dessen inkonstantes Verhalten gerade ein zuverlässiges diagnostisches Hilfsmittel darzustellen scheint.

4) Im Normal- und im Immunserum sind nebeneinander thermolabile und thermostabile Opsonine enthalten, so daß, hinsichtlich der Opsonine, zwischen Normal- und Immunserum nur ein quantitativer, kein qualitativer Unterschied besteht.

5) Weder die Normal- noch die Immunopsonine sind einem der bisher bekannten Immunkörper gleichzusetzen, insbesondere unterscheidet sich das Normalopsonin von dem Komplement und das Immunopsonin von den Hämolysinen bezw. Bakteriolysinen.

6) Bei geeigneter Erhitzung oder Dialyse von frischem Serum entstehen Antiopsonine, welche sich ausschließlich gegen die thermolabilen Opsonine des frischen Serums richten.

7) Die Opsoninwirkung läßt sich in eine Adsorptions- und eine Bindungsphase trennen.

8) Der durch Opsonine beeinflußten Phagocytose geht eine Annäherung zwischen Bacillen und Leukocyten voraus.

9) Die „Antiopsoninprobe“ kann mit Vorteil zur Differentialdiagnose zwischen normalem und spezifischem Krankenserum verwandt werden.

10) Durch die auch im infizierten Organismus mögliche Bildung von Antiopsoninen findet das sonst mit der Vorstellung der Opsonine als Immunkörper unvereinbare ständige Schwanken des opsonischen Index eine annehmbare Erklärung.

Edinburgh und Saarbrücken im Mai 1909.

Literatur.

1) **Fornet** u. **Krencker**, Ueber die praktische Bedeutung der Opsonine. (Vortrag, geh. a. d. XIV. Internat. Kongr. f. Hyg. u. Demographie. Berlin 1907.)
2) **Forster**, Verhandl. d. Gesellsch. Dtscher Naturf. u. Aerzte. Dresden 1907.
3) **Leishman**, Some experiments in connection with „stimulins". (Transact. Pathol. Soc. London. Vol. 56. 1905. p. 344.)
4) **Dean**, An experimental enquiry into the nature of the substance in serum which influences phagocytosis. (Proc. Roy. Soc. London. Vol. 76. 1905. p. 506.)
5) **Hektoen** and **Ruediger**, Studies in phagocytosis. (Journ. of Inf. Dis. Vol. 2. 1905. p. 128.)
6) **Klien**, The opsonins in typhoid immunity. (Bull. John Hopkins Hosp. 1907. p. 245.)
7) **Stiennon**, Compt. rend. de la soc. de biol. 1907. 13. u. 20. April.
8) **Neufeld** u. **Hüne**, Untersuchungen über bakterizide Immunität und Phagocytose. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 25. 1907. p. 164.)
9) **Hannema**, Onderzookingen over Opsoninen. [Diss.] 73 p. Amsterdam 1908.
10) **Miller** and **Taylor**, Electrolysis through precipitation films. (Proc. Roy. Soc. Edinburgh. Vol. 6. 1905. Part 6. p. 447.)
11) **Sleeswijk**, Phagocytose en Opsoninen. [Diss.] Amsterdam 1908.
12) **Keith**, On the relationship between haemolysis and the phagocytosis of red blood cells. (Proc. Roy. Soc. Vol. 77. 1906. p. 537.)
13) **Ehrlich** u. **Morgenroth**, Ueber Hämolysine. (Berl. klin. Wochenschr. 1899. No. 22.)
14) **Hecker**, Beiträge zur Kenntnis der hämolytischen Komplemente. (Arb. a. d. Königl. Inst. f. exper. Therap. Frankfurt a./M. 1907. Heft 3. p. 36.)
15) **Madsen**, cf. **Arrhenius**, Immunochemie. 1907. p. 31.
16) **Noguchi**, Influence of reaction and of desiccation on opsonins. (Journ. of exper. Med. Vol. 9. 1907. p. 455.)
17) **Hektoen**, Are opsonins distinct from other antibodies. (Journ. Inf. Dis. Vol. 3. 1906. p. 434.)
18) **Horton**, How to keep opsonin best. (Trans. Chicago. Path. Soc. Vol. 6. 1907. p. 297.)
19) **Löhlein**, Observation sur la phagocytose in vitro. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1905. No. 10 et 1906. No. 11.)
20) **Simon**, **Lamar** and **Bispham**, A contribution to the study of opsonins. (Journ. of exper. Med. Vol. 8. 1906. p. 651.)
21) **Veitch**, A simple and rapid method of estimating the phagocytic power. (Journ. of pathol. Baster. Vol. 12. 1907.)
22) **Dean**, Proc. Roy. Soc. Vol. 79. 1907. p. 391.
23) **Levaditi** et **Inmann**, Contribution à l'étude des „opsonines". (Compt. rend. soc. de biol. Paris. T. 62. 1907. p. 683.)
24) **Levaditi** et **Koessler**, Contribution à l'étude des opsonines normales.
25) **Muir** and **Martin**, On the combining properties of opsonins of normal serum. (Brit. med. Journ. 1906. 22. Dez.)
26) **Bulloch** and **Atkin**, Experiments on the nature of the opsonic action of the blood serum. (Proc. Roy. Soc. Vol. 74. 1905. p. 378.)
27) **Neufeld** u. **Händel**, Ueber Komplementbindung und Komplementablenkung bei 0° und bei 37°. (Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 48. 1908. p. 198.)
28) **Cowie** and **Chapin**, On the reactivation of heated normal human opsonic serum with fresh diluted serum. (Journ. of Med. Res. 1907. No. 100. p. 57.)
29) **Yorke** and **Smith**, Evidence of the existence of a pre-opsonin in normal serum. (Biochem. Journ. Liverpool. Vol. 2. 1906. p. 74.)
30) **Fornet** u. **Porter**, Ueber den Bau der Opsonine. Paratyphusopsonine. [II. Mitt.] (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1908. p. 461.)
31) **Savtschenko**, Du rôle des fixateurs dans la phagocytose. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 16. 1902. p. 106.)

32) Ledingham, Inhibitive action upon subsequent phagocytosis etc. (Proc. Roy. Soc. London. Ser. B. Vol. 78. 1907. p. 482.)
33) Caulwell, Journ. Inf. Dis. 1908.
34) Haentjens, Ueber das Ausbleiben der Phagocytose bei Komplementbindung. (Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 561.)
35) Meyer, K., Ueber die phagocytosebefördernden Substanzen des Blutserums. (Berl. klin. Wochenschr. 1908. No. 20.)
35a) Hata, Ueber Konstitution und Spezifität der Opsonine im normalen Serum. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 61. Heft 1. p. 81.)
36) Sachs, Die Hämolysine. (Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse. Jahrg. 7. 1902.)
37) Bearn and Cramer, The effect of heat on enzyme activity. (Journ. Physiol. Vol. 34. 1906. p. 1.)
38) — —, On zymoids. (Biochem. Journ. Liverpool. Vol. 2. 1907. No. 4. p. 174.)
39) Pollak, Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 6. 1904. p. 95.
40) Schwarz, Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. 6. 1905. p. 524.
41) Neisser u. Doering, Zur Kenntnis der hämolytischen Eigenschaften des menschlichen Blutserums. (Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 22.)
42) Michaelis u. Oppenheimer, Ueber Immunität gegen Eiweißkörper. (Arch. f. Anat. u. Physiol. 1902.)
43) Friedemann u. Isaac, Ueber Eiweißimmunität und Eiweißstoffwechsel. (Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. Bd. 1.)
44) v. Bergmann u. Sarini, Das hämolytische Hemmungsphänomen bei Phosphorvergiftung und anderen pathologischen Prozessen. (Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. Bd. 4. 1907. p. 817.)
45) Hoffmann, Eva, Experimentelle Untersuchungen über die hemmende Wirkung inaktivierter Sera. (Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. Bd. 4. 1907. p. 704.)
46) Greig Smith, Linnean Soc. of N. S. Wales. 1905. T. 4. November.
47) Clark, The opsonic index in typhoid fever. (Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 47. 1907. p. 2159.)
48) Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1896, 1899, 1900.
49) Bowning and Mc Kenzie, Modifications of serum and organ-extract due to physical agencies and their effect on the Wassermann syphilis reaction. (Journ. of Pathol. and Bact. Vol. 13. 1909. No. 2 u. 3. p. 323.)
50) Wright and Douglas, An experimental investigation of the role of the blood fluids in connection with phagocytosis. (Proc. Roy. Soc. London. Vol. 72. 1904. p. 357.)
51) — —, Further observation on the role etc. (Ibid. Vol. 73. 1905. p. 128.)
52) — —, On the action exerted upon the Staphylococcus pyogenes by human blood fluids, and on the elaboration of protective elements in the human organism in response to inoculations of a staphylococci „vaccine“. (Ibid. Vol. 74. 1905. p. 147.)
53) — —, On the action exected upon the tubercle bacillus by human blood fluids and on the elaboration of protective elements in the human organism in response to inoculations of a tubercle vaccine. (Ibid. p. 159.)
54) Bächer, Ueber Beeinflussung der Phagocytose durch normale Sera. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. Heft 1.)
55) Neufeld u. Rimpau, Ueber die Antikörper des Staphylokokken- und Pneumokokkenimmunserums. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. p. 1458.)
56) Fornet u. Porter, Ueber den Bau der Opsonine. (Verhandl. d. Gesellsch. Dtscher Naturf. u. Aerzte. Dresden 1907.)
57) Barrat, The phagocytosis of red blood cells. (Proc. Roy. Soc. London. Vol. 46. p. 534.)
58) Keith, On the relationship between haemolysin and the phagocytosis of red blood cells. (Proc. Roy. Soc. London. Vol. 77. 1906. p. 537.)
59) Bächer, Bakteriolytisches Serum gegen Vibrionen ohne bakteriotrope Wirkung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1907. p. 166.)
60) Mc Farland, Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 44. p. 1176.
61) Welsh and Chapman, Proc. Roy. Soc. London. 1907.
62) Fornet u. Krencker, Die diagnostische Bedeutung der Opsoninbestimmung. (Dtsches Arch. f. klin. Med. 1909.)
63) Blum u. Fuld, Ueber das Vorkommen eines Antipepsins im Magensaft. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 58. Heft 5 u. 6.)
64) Dastre et Stassano, Nature de l'action exercée par l'inhibition par l'antikinase sur la kinase. (Compt. rend. soc. biol. T. 55. 1903. p. 633.)
65) Hamburger and Hekma, Quantitative researches on phagocytosis. (Verhandl. d. Akad. v. Wetenschappen Amsterdam. 1907. p. 144.)
66) Bordet, La fixation de l'alexine et sa signification pour l'immunité. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Ref. Bd. I. 1909. p. 1.)
67) Hektoen, Journ. Amer. Med. Assoc. Vol. 46. 1906. p. 19.

68) Weil u. Tsuda, Ueber Behinderung der Reagensglas-Phagocytose. (Berl. klin. Wochenschr. 1907. p. 1038.)
69) Levy u. Fornet, Nahrungsmittelvergiftung und Paratyphus B. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 41. 1906.)
70) — —, Ueber Filtrataggressine. (Dtsche med. Wochenschr. 1906. No. 26.)
71) Fornet, Ueber moderne Serodiagnostik. (Münch. med. Wochenschr. 1908.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Agglutinationswirkung des normalen Rinderserums.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität Prag (Vorstand: Prof. Hueppe).]

Von Prof. Dr. **Oskar Bail.**

Unter den Seren normaler Tiere, welche Bakterien zu agglutinieren vermögen, zeichnet sich das Rinderserum durch eine besonders starke Wirkung aus und ist deshalb zu Versuchen mehrfach benutzt worden. Experimente des hiesigen Institutes zeigten, daß fast alle Bakterien der Agglutination in diesem Serum unterliegen und Braun[1]) konnte nachweisen, daß für dieselbe ein thermolabiler und ein thermostabiler Faktor in Frage komme, daß die Agglutination somit ein komplexer Vorgang sein müsse. In jüngster Zeit haben Bail und Tsuda und Tsuda[2]) durch Abspaltung des an Choleravibrionen gebundenen Rinderagglutinins den Nachweis der Komplexität auf neue Weise führen können.

Die Schwierigkeit des exakten Nachweises der Agglutination als eines komplexen Phänomens, welche schon 1902 von Bail[3]) behauptet wurde, liegt darin, daß die zusammenballende Fähigkeit eines Serums nicht wie die hämo- und bakteriolytische einfach schon durch Erwärmen auf relativ niedrige Temperaturen verschwindet, sondern daß es dazu einer höheren Temperatur bedarf. Zerstört man aber durch eine solche die an sich vorhandene Agglutinationswirkung, so wird deren Ergänzung zu einer sehr schwierigen. Diese Tatsache, der relativen Wärmebeständigkeit spricht aber „nicht gegen die Auffassung, daß auch bei der Agglutination das Komplement in Tätigkeit treten müsse. Denn es ist sehr leicht möglich, daß die Erwärmung eines Serums auf 56° zwar einen großen Teil, aber nicht das ganze vorhandene Komplement zerstört. In einem solchen werden dann Reaktionen, zu deren Eintreten verhältnismäßig viel Komplement nötig ist (Bakteriolyse), ausbleiben, nicht aber solche, für die schon ein geringer Komplementgehalt ausreicht [Agglutination][4]).

Ohne die ausgedehnten Versuche des Institutes zu kennen, veröffentlichte O. Streng[5]) aus dem Institute Bordets Versuche über die Agglutination durch Rinderserum, welche zu ganz eigenartigen Schlüssen führten. Er konnte zeigen, daß Diphtherie- und Tuberkelbacillen durch Rinderserum zusammengeballt werden. Erhitzt man das Serum $^1/_2$ Stunde auf 56°, so vermag eine Menge (z. B. 0,1 ccm für Diphtherie), die sonst reagieren würde, keine Zusammenballung mehr zu erzeugen. Typhus- und Coli-Bakterien werden dagegen sowohl durch aktives, wie durch erwärmtes Serum agglutiniert. Diese Erscheinung könnte nach Streng entweder darauf beruhen, daß für die verschiedenen Bakterien verschiedene „Agglutinine“ mit verschiedener Hitzeempfindlichkeit existieren, oder aber darauf, daß die durch frisches Rinderserum hervorgerufene Zusammenballung gar keine wirkliche Agglutination ist. Wirkliche Agglutinine gäbe es im Rinderserum für Coli- und Typhusbakterien, „da dieselben, nachdem das Serum auf 56° erhitzt und so seines Alexingehaltes beraubt worden war, wenigstens teilweise zurückgeblieben sind[1]). Die Zusammenballung von Diphtherie- oder Tuberkelbacillen erklärt Streng als ein eigenes Phänomen, als Konglutination, welche von der Agglutination unabhängig sei und zu ihrem Zustandekommen der Mitwirkung von Alexin, Sensibilisator und kolloider im Rinderserum und anderen Seren vorhandener Stoffe bedürfe. Er überträgt daher eine von Bordet und Gay für gewisse Befunde an Blutkörperchen aufgestellte Hypothese auf Befunde an Bakterien.

---

[1]) Archiv f. Hygiene. Bd. 68. 1908.

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 1. 1909. No. 3; Bd. 2. No. 2.

[3]) Archiv f. Hygiene. Bd. 42. 1903, überdies Bail und Hoke, Archiv f. Hygiene. Bd. 64. 1908.

[4]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 2. No. 2. p. 230 und 231.

[5]) Dieses Centralblatt. Orig. Bd. 50. Heft 1.

Die von Streng mitgeteilten Versuche sind zum kleinen Teil nur mit Normalserum, zum größeren unter Zuhilfenahme von spezifischem Immunserum angestellt. Indem wir uns vorbehalten auf Versuche mit Immunserum in einer späteren Arbeit ausführlich einzugehen, soll zunächst untersucht werden, ob die von Streng aufgestellte Erklärungsweise für das Rinderserum zutreffen kann, ob die Nötigung besteht neue besondere Stoffe, die Konglutinine, anzunehmen.

Die ganze Beweisführung muß von der Untersuchung ausgehen, ob im Rinderserum tatsächlich keine Agglutinine für Diphtheriebacillen im Sinne Strengs vorhanden seien, also ob ein auf 56° erhitztes Serum wirklich als inaktiviert bezeichnet werden kann. Es ist zu bedauern, daß Streng die jahrelangen Versuche unseres Institutes an vielen Hunderten von Rinderseren nicht kannte, in denen u. a. nachdrücklich die Relativität der Inaktivierungstemperaturen betont ist.

Für den hier benutzten Diphtheriestamm trifft wie für den Strengs die Angabe zu, daß die Dosis von 0,1 ccm $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmten Rinderserums in der Regel nicht mehr agglutiniert. Man braucht aber nicht lange zu suchen, um Rindersera in die Hand zu bekommen, welche auch in dieser Dosis noch eine, wenngleich abgeschwächte, Zusammenballung zeigen, und es gibt kein Rinderserum, das nicht bei einer mäßigen Erhöhung der Dosis um das $2^1/_2$—5-fache (0,25—0,5 ccm) trotz der Erwärmung auf 56° agglutinieren würde.

Mit dieser Feststellung gerät das Gebäude der Schlußfolgerungen Strengs bereits ins Schwanken. Denn gemäß der Charakteristik der echten Agglutination, als einer Serumwirkung, welche durch die Temperatur von 56° nicht zerstört wird, müssen auch gegen Diphtheriebacillen echte Agglutinine im Rinderserum vorhanden sein. Daß sie durch Erhitzen im Vergleich zu frischen Seren abgeschwächt werden, ist für jedes normale Rinderserum und jeden untersuchten Mikroorganismus bekannt. Auch die Typhus- und Choleraagglutination erleidet eine zwar geringe, aber doch deutliche Abschwächung, sobald man sich die Mühe nimmt, die genaueren Grenzwerte aufzufinden.

Versuch I. Zur Agglutination wird ein 18 Stunden altes Rinderserum, teils im aktiven Zustande, teils nach $^1/_2$-stündiger Erwärmung auf 56° benützt. Alle Proben, zu denen 0,5 ccm einer dünnen Aufschwemmung von Diphtheriekultur auf Löffler-Serum zugefügt werden, sind mit NaCl-Lösung auf das gleiche Volumen aufgefüllt. Für den Versuchsausfall gelten folgende Zeichen: +++ vollständige, ++ weitgehende, + deutliche, +? spurenweise oder zweifelhafte Reaktion.

---

[1] A. a. O. p. 51.

		1 Std. 37°	2 Std. 37°
1) 0,01	ccm akt. Rinderserum	0	0
2) 0,025	„ „ „	+?	+
3) 0,05	„ „ „	++	+++
4) 0,075	„ „ „	++	+++
5) 0,075	„ Rinderserum ½ Std. 56°	0	0
6) 0,1	„ „ „	0	+?
7) 0,25	„ „ „	+	++
8) 0,5	„ „ „	++	+++

Versuch II. Das gleiche Serum wie im I. Versuche. Zugesetzt je 0,5 ccm einer entsprechend verdünnten Choleraaufschwemmung (1 Agarkultur in 30 ccm NaCl-Lösung).

		1 Std. 37°	2 St. 37°
1) 0,001	ccm akt. Rinderserum	0	0
2) 0,005	„ „ „	+	+
3) 0,01	„ „ „	++	++
4) 0,025	„ „ „	++	fast +++
5) 0,05	„ „ „	++	+++
6) 0,001	„ Rinderserum ½ Std. 56°	0	0
7) 0,005	„ „ „	0	0
8) 0,01	„ „ „	+?	+?
9) 0,025	„ „ „	++	++
10) 0,05	„ „ „	++	+++

Das Rinderserum zeigt also keineswegs agglutinatorische Besonderheiten gegen bestimmte Mikroorganismen, wie den Diphtheriebacillus, sondern es verhält sich gegenüber allen Bakterien prinzipiell gleich: Es agglutiniert im unerhitzten Zustande stärker und wird durch Erwärmung abgeschwächt, allerdings in verschiedenem Grade.

Diese Abschwächung weist darauf hin, daß auch für die Zusammenballung von Bakterien, wie für die Bakterien oder Hämolyse ein thermolabiler Serumbestandteil, ein Komplement von Bedeutung sein muß, ein Punkt, in welchem wir Streng vollkommen beistimmen. Ob aber dann eine eigene, von der Agglutination unabhängige Konglutination angenommen werden muß, scheint in keiner Weise notwendig.

Streng setzt zu dem für Diphtherie- oder Tuberkelbacillen in der Dosis von 0,1 ccm durch Erwärmen unwirksam gewordenen Rinderserum frisches Meerschweinchenserum und beobachtete danach das Wiederauftreten der Zusammenballung, deren eigenartiges Aussehen er mehrfach hervorhebt, ohne es aber genauer zu beschreiben; er erwähnt nur als wesentlich, daß sie beim Schütteln leichter als beim ruhigen Stehen erfolgt.

Es ist zunächst zu bemerken, daß diese Versuche nichts prinzipiell Neues enthalten. Denn die Ergänzung der agglutinierenden durch Erhitzen verloren gegangenen Serumwirkung ist in den Arbeiten unseres Institutes nicht nur mit Meerschweinchenserum, sondern auch mit anderen aktiven Flüssigkeiten versucht worden und in verschiedener Weise gelungen [1]). Daß aktives Rinderserum eine anders aussehende Zusammenballung hervorruft als inaktiviertes, ist ebenfalls schon längere Zeit festgestellt und genauer beschrieben worden [2]).

Wir zogen daraus den Schluß, „daß auch für die Agglutination, mindestens durch Normalserum, das Komplement eine sehr große Rolle spielen muß“. Daß dem abweichenden makroskopischen Aussehen der Agglutination im aktiven Rinderserum auch ein anderer mikroskopischer Befund entspricht, ist bei Choleravibrionen ebenfalls genau beschrieben worden und es liegt sehr nahe, das Eintreten der von Streng als Konglutination bezeichneten Form der Agglutination einfach als Dazutreten von Bakteriolyse mehr oder minder hohen Grades zur Agglutination aufzufassen.

---

[1]) Archiv f. Hygiene. Bd. 42. 1902; Bd. 64. 1908. p. 68. Ein komplexes Phänomen bei der Agglutination von Blutkörperchen beschreibt auch Muir und Browning. (Journal of Hyg. Vol. 6. 1906. No. 1.)

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 1. p. 591.

Was nun Versuche mit Diphtheriebacillen betrifft, so läßt sich leicht zeigen, daß die bei 56° unwirksam gewordene Menge von 0,1 ccm Rinderserum durch Zusatz von 0,1 ccm aktivem Meerschweinchenserum wieder zur Agglutination in groben Flocken führt, während inaktives Meerschweinchenserum dies nicht bewirkt und inaktives Rinderserum allein in höherer Dosis nur zu einer langsamen Bildung feiner Flocken führt. Damit ist die Intervention eines Komplementes festgestellt, aber in keiner Weise gezeigt, daß eine neue Serumreaktion vorliegt. Denn Zusatz von aktivem Meerschweinchenserum wirkt auf die Agglutination von Rinderserum überhaupt verstärkend ein.

Verwendet wird ein ganz frisches Rinderserum, teils aktiv, teils nach vorangehender Erwärmung auf 56° ($^1/_2$ Stunde). Zusatz von je 0,5 ccm Diphtherieaufschwemmung.

							1 Std. 37°	2 Std. 37°
1)	0,001	ccm	akt. Rinderserum	+ 0,1	ccm	NaCl-Lösung	0	0
2)	0,001	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	+ ?	+
3)	0,005	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	0	0?
4)	0,005	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++
5)	0,01	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	0	0?
6)	0,01	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++
7)	0,025	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	+	++ 1)
8)	0,025	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++ 1)
9)	0,05	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	++	+++ 1)
10)	0,05	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++ 1)
11)	0,075	„	„ „	+ 0,1	„;	NaCl-Lösung	++	+++ 2)
12)	0,075	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++ 2)
13)	0,001	„	inakt. Rinderser.	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	0	0
14)	0,001	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	+	+
15)	0,005	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	0	0
16)	0,005	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	fast +++
17)	0,01	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	0	0
18)	0,01	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++
19)	0,05	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	0	0
20)	0,05	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++
21)	0,1	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	?	+ ?
22)	0,1	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++
23)	0,25	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	++	fast +++ 1)
24)	0,25	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++ 1)
25)	0,5	„	„ „	+ 0,1	„	NaCl-Lösung	++	+++ 1)
26)	0,5	„	„ „	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	++	+++ 1)
27)	0,2	„	NaCl-Lösung				0	0
28)	0,1	„	„	+ 0,1	„	akt. Meerschweinchenserum	0	0

Erst wenn man relativ große, über 0,1 ccm hinausgehende Mengen aktiven Rinderserums nimmt und diesen noch aktives Meerschweinchenserum zusetzt, kann man eine Verzögerung der Agglutination beobachten, wie sie Streng (a. a. O., p. 64 von seinen Versuchen mit Immunagglutininen) erwähnt; diese tritt aber auch bei Verwendung inaktiven Rinderserums (über 0,5 ccm) auf und ist nicht absolut konstant, was möglicherweise mit dem Alter des Serums zusammenhängt.

Streng versuchte die Alexine des Rinderserums durch Wasserzusatz auszuschalten, und fand, daß so behandelte Sera, welche Meerschweinchenblut nicht mehr lösten, auch nicht mehr Diphtheriebacillen agglutinierten, wohl aber dann, wenn er Meerschweinchenserum zusetzte. Diese Versuche gelingen ohne weiteres unter der Voraussetzung, daß man nicht ganz frische (weniger als 20 Stunden alte) Rinderseren anwendet, deren Komplementgehalt durch Wasserverdünnung nicht zerstört

---

1) Flocken bei Zusatz von Meerschweinchenserum viel massiver.

2) Kein Unterschied in der Art der Zusammenballung.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

wird, wie bereits Tsuda[1]) gefunden hatte. Es läßt sich jedoch leicht zeigen, daß durch diese Methode der Komplementausschaltung die Agglutination des Rinderserums nur geschwächt, nicht aufgehoben wird. Die Methode hat gegenüber der Inaktivierung bei 56° das Unangenehme, daß man mit stark verdünnten Flüssigkeiten arbeiten muß. Nimmt man inaktives Serum, das man in gleicher Weise wie das aktive mit Wasser versetzt, so bemerkt man die bekannte Erscheinung, daß die entstehende Trübung, eventuell Fällung, viel geringer ist als im aktiven Serum. Der im erwärmten Rinderserum erhaltene Rest der Agglutinationskraft erfährt durch die Behandlung mit Wasser keine wesentliche Einbuße mehr.

Versuch. Es werden folgende Proben angesetzt:
1) 4 ccm aktives Rinderserum + 16 ccm destilliertes Wasser
2) 4 „ Rinderserum $^1/_2$ Std. 56° + 16 „ „ „
3) 4 „ aktives Rinderserum + 16 „ NaCl-Lösung
4) 4 „ Rinderserum $^1/_2$ Std. 56° + 16 „ „

Die Röhrchen, von denen 1 eine sehr starke, 2 eine viel schwächere Trübung zeigt, bleiben über Nacht bei niederer Zimmertemperatur stehen. Danach haben sich in 1 Flocken abgesetzt, in 2 besteht nur Trübung. Zu 1 und 2 wird Kochsalz in Substanz in entsprechender Menge zugesetzt, worauf in kürzester Zeit Klärung eintritt. Mit Meerschweinchenblut zeigt 0,5 ccm von 3 binnen 10 Minuten vollständige Hämolyse, 2 und 4 sind vollständig unwirksam, 1 zeigt 1 Stunde lang keinerlei, dann spurenweise Hämolyse. Der sehr umfangreiche Versuch ist verkürzt wiedergegeben, das Beobachtungsresultat nach 2 Stunden Aufenthalt bei 37° notiert. (Es änderte sich übrigens später, außer dem spontanen Absetzen der Diphtheriebacillen nicht mehr.) Alle Proben sind mit NaCl-Lösung auf das Volumen von 1,25 ccm aufgefüllt. Die Proben mit 2 ccm sind isoliert.

	von 1	von 2	von 3	von 4
0,125 ccm + 0,1 ccm NaCl-Lösung	0	0	?	0
0,125 „ + 0,1 „ akt. Meerschw.-Ser.	++	++	fast +++	+—++
0,25 „ + 0,1 „ NaCl-Lösung	+?	+?	++	0
0,25 „ + 0,1 „ akt. Meerschw.-Ser.	+++	++—+++	fast +++	++—+++
0,5 „ + 0,1 „ NaCl-Lösung	+—++	++	fast +++	+
0,5 „ + 0,1 „ akt. Meerschw.-Ser.	+++	fast +++	+++	+++
1,25 „ + 0,1 „ NaCl-Lösung	fast +++	fast +++	+++	fast +++
1,25 „ + 0,1 „ akt. Meerschw.-Ser.	+++	+++	+++	+++
2,0 „ + 0,1 „ NaCl-Lösung	+++	+++	+++	+++
2,0 „ + 0,1 „ akt. Meerschw.-Ser.	+++	+++	+++	+++

Es unterliegt somit keinem Zweifel, daß die Ausschaltung des Komplements, ob sie nun durch Erhitzen oder durch Wasserzusatz erfolgt, die Agglutination des Rinderserums für Diphtheriebacillen nicht aufhebt, sondern nur abschwächt, allerdings in höherem Grade als z. B. die von Choleravibrionen, für welche sonst das gleiche gilt.

Versuch. Das gleiche Serum wie im vorigen Versuche, gleiche Anordnung bei Verwendung von Choleravibrionen. Sehr verkürzt wiedergegeben. Alle Proben waren auf 0,75 ccm mit NaCl-Lösung aufgefüllt.

	von 1	von 2	von 3	von 4
1) 0.5 ccm + 0,1 ccm NaCl-Lösung	+++	+++	+++	+++
2) 0,5 „ + 0,025 „ akt. Meerschweinchenserum (in 0,1 ccm NaCl)	+++	+++	+++	+++
3) 0,25 „ + 0,1 „ NaCl-Lösung	+++	+++	+++	+++
4) 0,25 „ + 0,025 „ akt. Meerschweinchenserum	+++	+++	+++	+++
5) 0,05 „ + 0,1 „ NaCl-Lösung	+	0?	fast +++	0
6) 0,05 „ + 0,025 „ akt. Meerschweinchenserum	+	0	fast +++	0

Bleibt man in dem Gedankengange der Arbeit Strengs, so muß man entweder die von ihm angenommene Konglutination der Diphtheriebacillen durch Rinderserum überhaupt aufgeben oder wenigstens neben den problematischen Konglutininen noch echte Agglutinine anerkennen. Um hierüber Klarheit zu erhalten, kann man sich mit Vorteil der Reagglutinationsversuche bedienen. Hat man eine größere Menge von Diphtheriebacillen durch die entsprechende Menge inaktivierten Rinderserums vollständig agglutinieren lassen, wozu meist einige Stunden notwendig sind, isoliert und wäscht sodann die Bakterien auf der Zentrifuge, so lassen sie sich in Kochsalzlösung leicht wieder zu einer gleichmäßigen Aufschwemmung verteilen, in welcher aber nach einiger Zeit neuerlich Zusammenballung, eine echte Reagglutination stattfindet.

---

[1] Berliner klin. Wochenschr. 1907.

Wiederholt man den Versuch unter Benutzung aktiven Rinderserums, so erfolgt die Agglutination viel rascher und führt zur Bildung grober, fest zusammenhängender Bakterienhaufen. Wäscht man diese sorgfältig und verteilt sie gleichmäßig in Kochsalzlösung, wozu es einiger Mühe bedarf, so erfolgt ebenfalls Reagglutination, aber unvergleichlich schneller als im vorigen Falle und mit Bildung viel gröberer Flocken. Es hat also die Reagglutination hier den Charakter der ursprünglichen Agglutination beibehalten, es erfolgt die von Streng als Konglutination aufgefaßte andere Form der Agglutination in einem indifferenten Medium, welches weder Sensibilisator noch Alexin noch kolloidale Serumsubstanz enthält. Der erstere ist natürlich an die Bakterien gebunden worden, und auch bezüglich des Alexins könnte man dasselbe annehmen. Für die kolloidale Serumsubstanz, ohne welche aber eine Konglutination nicht möglich sein soll, ist aber diese Annahme nicht möglich, und Streng betont selbst (a. a. O., p. 62), daß das Rinderserum seine kolloiden Substanzen durch Kontakt mit nativen Bakterien nicht verliert. Allerdings ist der diesbezügliche Versuch Strengs nicht sehr klar. Er läßt Typhusbacillen auf 0,2 ccm Rinderserum in der Verdünnung 1:4 einwirken, danach gibt es weder für sich allein noch mit Meerschweinchenserum zusammen Agglutination. Es tritt aber eine typische Konglutination auf, sobald er dieses erschöpfte Rinderserum gerade so wie nicht erschöpftes zu einer Mischung von Meerschweinchen und Immunserum zusetzt, welche für sich allein eine viel schwächere Reaktion zeigt. Das Rinderserum enthält aber außer Agglutininen auch reichlich Sensibilisatoren und Alexin für Typhusbacillen. All das muß durch den Kontakt von 0,2 ccm Serum mit dem Satze von 20 ccm Typhusbouillonkultur absorbiert worden sein, d. h. die Bacillen wurden „sensibilisiert und alexiniert“, in welchem Zustande sie nach Strengs Analogieschluß mit roten Blutkörperchen auch die kolloiden Stoffe des Rinderserums an sich reißen müßten, was im Versuche aber nicht der Fall gewesen zu sein scheint.

Schwemmt man Diphtheriebacillen, welche durch inaktives Serum zur Agglutination gebracht sind, gleichmäßig in Kochsalzlösung auf und setzt dann aktives Meerschweinchenserum oder Kaninchenserum in der Menge von 0,05—0,1 ccm zu 0,5 ccm der Aufschwemmung zu, so ließ sich einige Male eine Beschleunigung der Agglutination unter Bildung grober Flocken beobachten, in der Regel war dies aber nicht der Fall. Es tritt jedoch immer ein, wenn man aktives Rinderserum verwendet.

Es ist bereits oben bemerkt worden, daß diese eigentümliche Form der Agglutination auf das Hinzutreten einer anderen Serumwirkung, der Bakteriolyse znr Agglutination ganz ungezwungen erklärt werden kann. Bei Verwendung von Choleravibrionen und Rinderserum kann man das am mikroskopischen Präparate ganz unmittelbar sehen. Es ist bereits beschrieben worden, wie in inaktivem Rinderserum sich lockere Haufen von gut erhaltenen Vibrionen bilden, während in aktivem oder in Mischungen von inaktivem Rinderserum mit genügend viel frischem Meerschweinchen-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

serum sich dichte Haufen von Granula in einer formlosen „Grundsubstanz“ bilden, was um so schöner hervortritt, je intensiver die Bakteriolyse werden kann. In der Tat bietet ja das Rinderserum vermöge seines hohen Immunkörpergehaltes die allerbesten Bedingungen zur Bakteriolyse, und dort, wo diese schwächer wird, wie bei Staphylokokken, findet man auch, von quantitativen Verhältnissen abgesehen, nur geringe Unterschiede im Aussehen der Agglutination durch aktives und inaktives Serum.

Auch bei Diphtheriebacillen sieht man Unterschiede im mikroskopischen Bilde der Agglutination durch aktives und inaktives Rinderserum: In ersteren ganz dichte Haufen, in letzteren lockere aneinander gelagerte Bacillen, die sich normal färben, während in aktiven Seren relativ tief gefärbte, etwas dicker aussehende Stäbchen vorhanden sind. So unmittelbar wie bei Choleravibrionen erscheint das Auftreten bakteriolytischer Vorgänge bei Diphtheriebacillen nicht im mikroskopischen Bilde, namentlich die so auffällige Ausbildung der „Grundsubstanz“ bleibt bei einfacher Versuchsanordnung rudimentär, das aber ist schon bei Typhusbacillen schwer zu sehen, die doch sicher mit Cholera viel Uebereinstimmung zeigen.

Daß ein Ausschalten der Bakteriolysemöglichkeit durch Wegnahme oder Verminderung von Komplement oder Immunkörper oder durch Komplementablenkung auch die besondere Form der Agglutination beseitigen muß, ist ohne weiteres verständlich, und auch die Versuche Strengs, in denen er Immunserum mitverwendete, werden leicht verständlich, ohne die Annahme besonderer „Konglutinine“, wie eine spätere Analyse derselben leicht ergeben wird.

Im Anschluß an diese Bemerkungen sei noch mitgeteilt, daß auch bei Diphtheriebacillen sich leicht eine Abspaltung der agglutinierenden Wirkung des Rinderserums herbeiführen läßt, wie dies Bail und Tsuda und Tsuda für Choleravibrionen gelungen war.

Versuch: 2 Kulturen Diphtherie wurden in 24 ccm aktiven, 16 Stunden alten Rinderserums aufgenommen und (ohne vorherige Wattefiltration) 2 Stunden bei 40° gehalten, wobei rasch Agglutination in massiven Flocken auftrat. Der abzentrifugierte und gewaschene Bakteriensatz wurde in 1,5 ccm NaCl-Lösung verteilt und 1 Stunde bei 42° digeriert. Es ließ sich leicht feststellen, daß anfangs rasch Reagglutination in groben Flocken stattfand, die zwar bei öfteren Umschütteln immer wiederkehrt, aber langsamer und unter leichter Zerteilbarkeit der früheren groben Flocken. Der durch gründliches Zentrifugieren wasserhell erhaltene „Extrakt“ wurde verwendet.

			nach 1 Std. bei 37°	nach 2 Std. bei 37°
1)	0,05 ccm Extrakt	+ 0,1 ccm NaCl-Lösung	0	0
2)	0,05 „ „	+ 0,1 „ akt. Meerschweinchenserum	+ ?	++
3)	0,1 „ „	+ 0,1 „ NaCl-Lösung	0	0
4)	0,1 „ „	+ 0,1 „ akt. Meerschweinchenserum	+	fast +++
5)	0,2 „ „	+ 0,1 „ NaCl-Lösung	0	0
6)	0,2 „ „	+ 0,1 „ akt. Meerschweinchenserum	+	fast +++
7)	0,4 „ „	+ 0,1 „ NaCl-Lösung	0	0
8)	0,4 „ „	+ 0,1 „ akt. Meerschweinchenserum	+	+++

Nach weiteren 12 Stunden Aufenthalt bei Zimmertemperatur waren alle Proben abgesetzt. Der Satz bestand bei 2, 4, 6, 8 nur aus groben Flocken, in 1, 3, 5 ließ er sich ohne Flockenbildung leicht gleichmäßig verteilen. In 7 waren feine Flöckchen vorhanden.

Versuch. Eine Diphtheriekultur wird in 20 ccm aktivem Rinderserum verteilt, durch Watte filtriert und 1 Stunde bei 40° gehalten, wobei die typische Agglutination des aktiven Rinderserums auftritt. Der durch Zentrifugieren isolierte und gewaschene Bakteriensatz wird in 1 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 42° digeriert und der erhaltene Extrakt untersucht.

			1 Std. 37°	2 Std. 37°
1)	0,1 ccm Extrakt	+ 0,1 ccm NaCl-Lösung	0	0
2)	0,1 „ „	+ 0,1 „ akt. Meerschweinchenserum	+	++
3)	0,1 „ „	+ 0,1 „ akt. Kaninchenserum	+	++
4)	0,2 „ „	+ 0,1 „ NaCl-Lösung	0	0
5)	0,2 „ „	+ 0,1 „ akt. Meerschweinchenserum	+—++	++—+++

			1 Std. 37°	2 Std. 37°
6)	0,2 ccm Extrakt	+ 0,1 ccm akt. Kaninchenserum	+—++	++—+++
7)	0,2 „ NaCl-Lösung		0	0
8)	0,2 „ „	+ 0,1 „ akt. Meerschweinchenserum	0	0
9)	0,2 „ „	+ 0,1 „ akt. Kaninchenserum	0	0

Nach weiteren 10 Stunden Aufenthalt bei Zimmertemperatur sind die Bacillen in allen Proben abgesetzt, in 1, 4, 7, 8 ohne Spur einer Flockenbildung. In 2, 3, 5 und 6 besteht der Satz nur aus mittelgroßen Flocken, die in den Proben mit Kaninchenserum stärker als in den mit Meerschweinchenserum ausgebildet sind. Aber Kaninchenserum (No. 9) zeigt schon an sich eine deutliche, wenn auch schwache Flockenbildung.

Es gelingt also ohne besondere Mühe, die durch vorhergehende Sensibilisierung an Diphtheriebacillen gebundene agglutinierende Wirkung des Rinderserums in indifferenten Medien wieder abzuspalten. Wie schon Tsuda bei Choleraversuchen gefunden hatte, ist es auch hier zweckmäßig, wenn nicht notwendig, mit aktivem Serum zu sensibilisieren. Gleichwohl agglutiniert der erhaltene „Extrakt“ an sich nicht oder nur schwach, wohl aber nach Zusatz von aktivem Serum. Der ganzen Versuchsanordnung nach kann es sich gar nicht um eine Konglutination im Sinne Strengs handeln, sondern nur um einen Sonderfall von Agglutination, bei der die Komplexität deutlicher als sonst hervortritt. Nach Streng wäre die Erklärung eine äußerst verwickelte; man müßte annehmen, daß die Bacillen gleichzeitig Sensibilisator, Alexin und kolloide Rindersubstanz gebunden haben, bei der Extraktion aber nur einen Teil der gebundenen Stoffe abgeben, wobei schwer zu entscheiden wäre, welcher das ist.

Es wäre durchaus mißverständlich, wenn man in der vorstehenden Mitteilung nichts anderes sehen wollte, als Polemik gegen die Arbeit Strengs oder gar nur eine Hervorhebung von Prioritätsansprüchen. In einem Hauptpunkte, der Anerkennung komplexer Vorgänge bei der Ausflockung von Bakterien, besteht Uebereinstimmung, und die Differenz bezieht sich nur auf die Anerkennung eines besonderen Vorganges, der Konglutination neben der Agglutination. Dabei ist aber hervorzuheben, daß eben die Auffassung der Agglutininwirkung seitens des Verf. eine andere ist als die übliche, die auch Streng für die typischen Agglutinine teilt und von vornherein manche Uebereinstimmung mit der von Streng angenommenen Wirkungsweise seiner Konglutinine hat. Es soll auch nicht im mindesten bestritten werden, daß besondere Zustände des Mediums von Einfluß auf den Eintritt und den Ablauf der Agglutination sein können (kolloide Substanz von Streng). Weitere Versuche werden das Problem aufklären und sobald als möglich veröffentlicht werden. Dabei soll auch auf einen noch möglichen Einwand gegen die Komplexität der Agglutination eingegangen werden. Es ist nämlich nicht nur das bei 56° inaktivierte Rinderserum gegen Diphtheriebacillen noch in höheren Dosen agglutinatorisch wirksam, sondern auch das zur Ergänzung benutzte aktive Meerschweinchenserum vermag an sich zu agglutinieren, wenn es in größerer Menge verwendet wird. Dennoch darf daraus der naheliegende Schluß einer Summationswirkung nicht gezogen werden.

Prag, 18. Mai 1909.

Nachdruck verboten.

Ueber die desinfizierende Wirkung der Formaldehydlösungen auf die Wände der Wohnungsräume.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Neapel
(Direktor: Prof. V. de Giaxa).]

Von Dr. **Matteo Ciaccia.**

Beim Desinfizieren von Wohnräumen nimmt das gasförmige Formaldehyd eine hervorragende Stelle ein. Doch kann dasselbe auch mit Vorteil, hauptsächlich zum Desinfizieren der Wände, im flüssigen Zustande angewandt werden, hierzu ist das im Handel vorkommende Formalin in geeigneten Lösungen bestens zu empfehlen. Bei den Schwierigkeiten, die sich einer gründlichen Desinfektion von Wohnungsräumen entgegenstellen, ist als einer der Hauptursachen einer scheinbar ungenügenden Wirkung des Formaldehyds die Art und Weise der Uebertünchung der Wände selber anzusehen. Hierüber habe ich im nachfolgenden die Ergebnisse einer Reihe diesbezüglicher Versuche mit verschiedenen Krankheitskeimen dargelegt, die ich auf Wänden mit Oelfarben-, Kalk- und Leimfarbenanstrichen angestellt habe.

Der Anstrich der Wände war alten Datums, denn es handelte sich um schon seit langem bewohnte Räume. Die betreffende Oelfarbe war mit Bleiweiß vermischt, zweimal aufgetragen und schließlich mit Firnis überzogen worden. — Der Kalkanstrich bestand aus mehrmaliger Ueberpinselung mit gewöhnlicher Kalkmilch. — Der Leimanstrich war ebenfalls mehrfach aufgetragen worden; er bestand aus Leim, Kalktünche und Farbe.

Auf allen diesen Wänden habe ich mit verschiedenen Mikroorganismen, sowohl vegetativen Formen als Sporen, Untersuchungen angestellt, indem ich die auf Agar erhaltene Kultur im Wasser sich gleichmäßig verteilen ließ und mit dieser Aufschwemmung eine größere Fläche der Wand benetzte. Nachdem die Wandfläche (in $^1/_2$—1 Stunde) angetrocknet war, machte ich mit Abhebungen davon eine Aussaat, um die Lebensfähigkeit der Keime festzustellen, worauf ich mit Hilfe einer gewöhnlichen kleinen Gummispritze die Formalinlösung so lange auf die Wandfläche spritzte, bis letztere gehörig angenäßt war. Von diesem Augenblicke an wurden 24 Stunden hindurch regelmäßig aufeinanderfolgende Versuche mit von der Wand entnommenen Abkratzungen gemacht; kleine Stücke sterilisierter Watte erfaßte ich mit einer sterilisierten Zange, tauchte sie in Bouillon, strich dann wiederholt damit über die Wandfläche und schloß sie dann in eine Bouillon enthaltende Glasröhre, die ich zeichnete und in den Brutschrank (bei 37° C) stellte. Durch mehrtägige Beobachtungen konnte die Entwickelung der Keime festgestellt werden, unter anderen auch durch hängenden Tropfen und durch Einimpfung in Versuchstiere.

Um den Versuchen einen gewissen praktischen Anstrich zu geben, bereitete ich das anzuwendende Formaldehyd selbst, indem ich das im Handel vorkommende Scheringsche 40-proz. Formalin entsprechend verdünnte. Der Gebrauch dieser Lösungen brachte für den damit Arbeitenden keine besondere Unbequemlichkeit mit sich, ausgenommen die 20—25-proz. Lösungen, bei denen man sehr schnell zu Werke gehen und sich nach beendigter Benetzung sofort vom Posten entfernen mußte. Dabei ist jedoch in Betracht zu ziehen, daß ich wegen der Kleinheit meiner Spritze gezwungen war, dicht an der anzunässenden Wand zu stehen.

In der Praxis könnte dies vermieden werden durch Anwendung eines Apparates, der die Lösung auf größere Entfernungen anspritzen würde.

Um die Möglichkeit zu vermeiden, daß Teilchen des desinfizierenden Materials in die Kulturen gelangen und deren Entwickelung beeinträchtigen könnten, wurde der zu prüfende Teil jedesmal besonders in die steril gebliebenen Röhrchen gebracht; diese zweite Aussaat wies stets ein positives Ergebnis auf. Außerdem habe ich noch einige Experimente derart ausgeführt, daß ich den Desinfektionsstoff mit NH_3-Lösungen auf der Wand selbst und ehe ich Abhebungen davon machte, neutralisierte: Die Ergebnisse waren dieselben wie bei der Nichtneutralisierung des Desinfizierungsmittels. Man kann hieraus entnehmen, daß geringe Mengen des Desinfizierungsmittels, die zufällig in die Kultur gelangten, entweder bei der Temperatur des Brutschrankes sich schnell verflüchtigten, oder aber, daß ihre Menge zur Ausübung einer antiseptischen Tätigkeit zu unbedeutend war.

Die Ergebnisse meiner Versuche mit den verschiedenen Bakterien sind die folgenden. (Das Pluszeichen gibt die Entwickelung der Keime in der betreffenden Röhre, das Minuszeichen besagt, daß die Kultur steril geblieben ist.)

1. Vegetative Formen.

	Lösung		Oelfarbenanstrich						Kalkanstrich						Leimfarbenanstrich					
	Formalin	Formaldehyd	Stunden 1	2	3	5	7	Temperatur	Stunden 1	2	3	5	7	Temperatur	Stunden 1	2	3	5	7	Temperatur
Staphyloc. pvog.	5-proz.	2-proz.	+	+	—	—	—	19° C	+	+	—	—	—	19° C	+	+	+	—	—	19° C
M. prodigiosus	5- „	2- „	+	—	—	—	—	„	+	—	—	—	—	„	+	+	—	—	—	„
Typhusbacillus	5- „	2- „	—	—	—	—	—	„	+	—	—	—	—	„	+	—	—	—	—	„
Bact. coli	5- „	2- „	+	—	—	—	—	„	+	—	—	—	—	„	+	+	—	—	—	„
Diphtheriebacillus	5- „	2- „	+	+	—	—	—	„	+	+	—	—	—	„	+	+	+	—	—	„
Milzbrandbacillus	5- „	2- „	+	—	—	—	—	„	+	+	—	—	—	„	+	+	—	—	—	„
Choleravibrionen	5- „	2- „	—	—	—	—	—	„	—	—	—	—	—	„	+	—	—	—	—	„

2. Sporen.

a) Sporen des B. subtilis; Milzbrandsporen.

Die Widerstandsfähigkeit des B. subtilis habe ich vorher durch Hitzegrade bestimmt: Um ihn abzutöten, mußte ich ihn über anderthalb Stunden lang hundertgradigem (Celsius) Wasserdampf aussetzen.

	Lösung		Oelfarbenanstrich							Kalkanstrich							Leimfarbenanstrich						
	Formalin	Formaldehyd	Stunden 1	2	3	5	7	24	Temperatur	Stunden 1	2	3	5	7	24	Temperatur	Stunden 1	2	3	5	7	24	Temperatur
Sporen des B. subtilis	5-proz.	2-proz.	+	+	—	—	—	—	21° C	+	+	+	—	—	—	21° C	+	+	+	+	+	+	21° C
	10- „	4- „	+	—	—	—	—	—	„	+	+	—	—	—	—	„	+	+	+	—	—	—	„
	15- „	6- „	—	—	—	—	—	—	„	—	—	—	—	—	—	„	+	+	—	—	—	—	„
	20- „	8- „							„							„	+	+	—	—	—	—	„
	25- „	10- „							„							„	—	—	—	—	—	—	„
Sporen des Milzbrandbacillus	5- „	2- „	+	+	—	—	—	—	„	+	+	+	—	—	—	„	+	+	+	+	—	—	„
	10- „	4- „	—	—	—	—	—	—	„	+	—	—	—	—	—	„	+	+	+	—	—	—	„
	15- „	6- „	—	—	—	—	—	—	„	—	—	—	—	—	—	„	+	+	—	—	—	—	„
	20- „	8- „							„							„	+	—	—	—	—	—	„
	25- „	10- „							„							„	—	—	—	—	—	—	„

b) Der Erde entnommene Keime.

Zur Vervollständigung der oben angegebenen Versuche mit vegetativen Formen und Sporen habe ich noch Experimente mit Gartenerde angestellt, da diese, wie bekannt, zahlreiche, gegen Desinfizierungsmittel außerordentlich widerstandsfähige Sporen enthält. Ohne mir Reinkulturen durch Isolierung zu bereiten, schwemmte ich einfach die Erde in Wasser auf, um festzustellen, welche Formalinlösungen geeignet wären, bei betreffender Temperatur die widerstandsfähigsten Keime abzutöten und in welcher Zeit dies geschehen könnte. In dem von mir benutzten Erdreich überlebten die widerstandsfähigsten Dauersporen die Einwirkung des 100° C heißen Wasserdampfes ungefähr 2 Stunden. Im folgenden die Ergebnisse:

Lösung		Oelfarbenanstrich							Kalkanstrich							Leimfarbenanstrich						
Formalin	Formaldehyd	Stunden						Temperatur	Stunden						Temperatur	Stunden						Temperatur
		1	2	3	5	7	24		1	2	3	5	7	24		1	2	3	5	7	24	
5-proz.	2-proz.	+	+	—	—	—	—	20° C	+	+	+	+	+	+	20° C	+	+	+	+	+	+	20° C
10- „	4- „	+	—	—	—	—	—	„	+	+	+	+	+	+	„	+	+	+	+	+	+	„
15- „	6- „	—	—	—	—	—	—	„	+	+	+	+	+	+	„	+	+	+	+	+	+	„
20- „	8- „							„	+	+	+	—	—	—	„	+	+	+	+	+	+	„
25- „	10- „							„	+	+	—	—	—	—	„	+	+	+	+	+	+	„

Der B. mesentericus erwies sich gegen die Wirkung des Formaldehyds am widerstandsfähigsten und blieb zuletzt in Reinkultur übrig.

Ueber die Versuche, die ich mit den aus Gartenerde erhaltenen Keimen auf verschiedenen Wänden angestellt habe, bemerke ich folgendes: Auf den mit Oelfarbe gestrichenen Wänden hatte eine 5-proz. Lösung nach bereits 3 Stunden alle aëroben Keime zerstört, so daß von solchen Wänden erhaltene Kulturen steril ausfielen. In Kulturen, die von mit Kalk- oder Leimfarben angestrichenen Wänden herrührten, fand sich unter den anderen aëroben Keimen fast immer ein Mikroorganismus, der die morphologischen Kennzeichen des Tetanusbacillus trug. Diese Kulturen setzte ich nun 1 Stunde lang einer Temperatur von 80° C aus, und impfte dann einige Meerschweinchen damit; dieselben starben alle mit den charakteristischen Anzeichen des Tetanus, und ich erhielt aus der Impfungsstelle den oben erwähnten Bacillus in anaërober Reinkultur. In den von Wandflächen herrührenden Kulturen entwickelte sich dieser Bacillus niemals allein, sondern stets mit anderen, meistens sporenbildenden Keimen vermischt, welch letztere seine Entwickelung unter aëroben Verhältnissen möglich machten. Ferner fand der Tetanusbacillus sich in den Kulturen schon nicht mehr vor, noch ehe die anderen Keime, mit denen zusammen er sich gezeigt hatte, daraus verschwunden waren. Es ist also anzunehmen, daß der in der Erde sich vorfindende Tetanusbacillus unter der Einwirkung des Formaldehyds, und noch vor den anderen Keimen, abgetötet wird; eine Tatsache, die sich bei späterer Kontrolle bestätigt gefunden hat. Sein Verhalten zu den desinfizierenden Lösungen geht aus nachfolgender Tabelle hervor:

Lösung		Kalkanstrich							Leimfarbenanstrich						
Formalin	Formaldehyd	Stunden						Temperatur	Stunden						Temperatur
		1	2	3	5	7	24		1	2	3	5	7	24	
5-proz.	2-proz.	S T	S T	S T	S T	S T	S T	21° C	S T	S T	S T	S T	S T	S T	21° C
10- „	4- „	„	„	„	„	„	S	„	„	„	„	„	„	„	„
15- „	6- „	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
20- „	8- „	„	„	„	S	S	„	„	„	„	„	„	S	S	„
25- „	10- „	„	S	S	„	„	„	„	„	„	„	S	„	„	„

S = Sporen aus Gartenerde; T = Tetanusbacillen.

Gleichzeitig mit den Versuchen über die Vermehrungsfähigkeit der der Einwirkung des Formaldehyds ausgesetzten Bakterien übertrug ich diese auf Versuchstiere, um festzustellen, ob sie noch imstande wären, zu infizieren. Bei den Milzbrandbacillen (Bacillen und Sporen) bediente ich mich des unmittelbar den Wänden entnommenen Materials und spritzte es, je nach dem Gehalt der Desinfektionslösungen und deren Wirkungsdauer, verschiedenen Meerschweinchen durch die Hauttasche ein. Was die anderen Keime betrifft, wie den Diphtheriebacillus, den Typhusbacillus, den B. coli commune sowie die Choleravibrionen, so benutzte ich dafür die nach der Einwirkung des Desinfizierungsmittels erhaltenen Kulturen. Dabei habe ich gefunden, daß, wenn die Keime noch vermehrungsfähig waren, sie ihre pathogenen Eigenschaften ebenfalls noch besaßen.

3. Tuberkelbacillus.

Von besonderer Bedeutung bei den Desinfizierungsversuchen mit Formaldehyd sind die Ergebnisse hinsichtlich der Desinfizierung der tuberkulösen Schleimauswürfe auf Wänden, einesteils, weil ja gerade diese so häufig im gewöhnlichen Leben vorkommen, anderenteils wegen der Widerstandsfähigkeit, die der Tuberkelbacillus den verschiedenen Desinfizierungsmitteln gegenüber hat, sei es mit Rücksicht auf den Gehalt des Sputums an Eiweißstoffen, sei es wegen der chemischen Zusammensetzung des Tuberkelbacillus selbst.

Bei diesen Untersuchungen verfuhr ich folgendermaßen: Größere Mengen eines an Tuberkelbacillen reichen Sputums breitete ich auf der Wand aus und ließ ihn 24 Stunden antrocknen. Zur Kontrolle hob ich dann, ohne zu desinfizieren, mit einer steril gemachten Lanzettennadel etwas von diesem Material ab, feuchtete es an und impfte es einigen Meerschweinchen ein. Das übrige Wandmaterial besprühte ich hierauf reichlich mit den verschiedenen Formalinlösungen und führte damit nach weiteren 6 Stunden Impfungen auf andere Meerschweinchen aus. Nachfolgende Tabelle zeigt die Ergebnisse.

Lösung		1. Versuch				2. Versuch				3. Versuch			
Formalin	Formaldehyd	Oelfarbe	Kalk	Leimfarbe	Temperatur	Oelfarbe	Kalk	Leimfarbe	Temperatur	Oelfarbe	Kalk	Leimfarbe	Temperatur
Kontrolle		+	+	+	20° C	+	+	+	21° C	+	+	+	18° C
5-proz.	2-proz.	+	+	+	„	+	+	+	„	+	+	+	„
10- „	4- „	+	+	+	„	—	+	+	„	—	+	—	„
15- „	6- „	—	—	+	„	+	—	—	„	+	—	+	„
20- „	8- „	+	—	—	„	—	+	—	„	—	+	+	„
25- „	10- „	—	—	—	„	+	—	—	„	—	—	—	„

Aus den bisher dargelegten Resultaten ergibt sich, abgesehen von den Abständen, die aus der verschiedenen Widerstandsfähigkeit der einzelnen Kleinlebewesen gegen dieses oder jenes Desinfizierungsmittel hervorgehen, ein bedeutender Wirkungsunterschied, der mit der Natur der betreffenden Wände zusammenzuhängen scheint. Dieser Unterschied ist teilweise schon auffallend bei den vegetativen Formen; er wird noch bedeutender bei den Sporen.

In der Tat widersteht der pyogene Staphylococcus der Einwirkung einer 5-proz. Formalinlösung auf einer mit Oelfarbe angestrichenen Mauer 2 Stunden, ebenso widersteht er 2 Stunden auf einer mit Kalk angestrichenen Wand, dagegen hält er 3 Stunden auf einer mit Leimfarbe angestrichenen Wand aus; dieselben Verhältnisse finden wir beim Diphtheriebacillus. Unter den gleichen Umständen halten der Typhusbacillus und der B. coli höchstens 1 Stunde auf dem Oelfarben- und dem Kalkanstrich, 2 Stunden auf der Leimfarbe aus. Der Milzbrandbacillus widersteht 1 Stunde auf der Oelfarbe, 2 Stunden auf dem Kalk und ebenfalls 2 Stunden auf der Leimfarbe.

Für die Sporen werden diese Unterschiede noch größer. Die Sporen des B. subtilis halten einer 5-proz. Formalinlösung auf dem Oelfarbenanstrich 2 Stunden lang stand; auf dem Kalkanstrich widerstehen sie 3 Stunden einer 5-proz. und 1 Stunde einer 10-proz. Lösung; auf der Leimfarbe widerstehen sie 24 Stunden einer 5-proz., 2 Stunden einer 15- und 20-proz. Lösung. Fast dieselben Ergebnisse kommen auf die Milzbrandsporen. Die in Gartenerde vorkommenden Sporen widerstehen nur 2 Stunden der Einwirkung einer 5-proz. Formalinlösung auf dem Oelfarbenanstrich, auf dem Kalkanstrich halten sie 24 Stunden gegen eine 5-, 10- und 15-proz. und 2 Stunden gegen eine 25-proz. Lösung aus; auf der Leimfarbe dagegen widerstehen sie der 25-proz. Lösung sogar 24 Stunden lang.

Dieser hemmende Einfluß, den der Kalkanstrich in leichterem, der Leimanstrich aber in viel stärkerem Maße auf die bakterizide Wirkung des Formaldehyds ausübt, ist in der physischen und chemischen Beschaffenheit der Wandoberfläche zu suchen. In der Tat bietet der Oelfarbenanstrich eine glatte und durchaus undurchlässige Fläche dar, so daß die angespritzte desinfizierende Lösung eine Schicht darauf bildet, die ihrerseits mit den Keimen so lange in Berührung bleibt, bis sie verflüchtigt ist. Dagegen ist der Kalkanstrich viel unebener und, was noch mehr sagen will, porös, so daß, während die Keime auf der Oberfläche liegen bleiben, die angespritzte Lösung von den Poren aufgesaugt und in den tieferen Schichten der Wand verteilt wird. Der Leimfarbenanstrich endlich hat eine regelmäßigere und ebnere Oberfläche und ist dabei fast ebenso porös wie der Kalkanstrich; abgesehen jedoch von dieser Beschaffenheit, ist die chemische Eigenschaft seiner Zusammensetzung in unserem Falle von großer Tragweite, während eben diese Zusammensetzung beim Oelfarben- und Kalkanstrich sich neutral verhält. Wie schon früher bemerkt, von den 3 oder 4 Leimfarbenaufträgen besteht der oberste aus mit tierischem Leim gemischten kieselsauren Salzen, während die unteren ausschließlich aus Leim bestehen, der, wie andere ähnliche organische Stoffe (Gelatine), imstande ist, das Formaldehyd zu fixieren. — Zum Beweise der Bedeutung, die diese Substanz bei der Herabminderung der desinfizierenden Wirkung der angewendeten Lösungen hatte, habe ich zwei Arten auf die gleiche Weise ausgeführte Versuche gemacht, und zwar einmal auf glattem, nur mit Leim bestrichenem, und das andere Mal auf ebenfalls glattem, aber mit Gelatine bedecktem Holz, wobei die Oberfläche beider Substanzen sauer reagierte. Unten die Ergebnisse.

	Lösung	Leim auf Holz						Gelatine auf Holz					
		Stunden					Temperatur	Stunden					Temperatur
		1	2	3	5	7		1	2	3	5	7	
Staphylococcus pyogenes	5-proz.	+	+	+	—	—	20° C	+	+	+	—	—	21° C
Micrococcus prodigiosus	5- „	+	+	—	—	—	„						
Typhusbacillus	5- „	+	—	—	—	—	„						
Bact. coli	5- „	+	+	—	—	—	„						
Diphtheriebacillus	5- „	+	+	+	—	—	„						
Milzbrandbacillus	5- „	+	+	—	—	—	„						
Choleravibrionen	5- „	+	—	—	—	—	„						

	Formalin	Formaldehyd	Leim auf Holz							Gelatine auf Holz						
			Stunden						Temperatur	Stunden						Temperatur
			1	2	3	5	7	24		1	2	3	5	7	24	
Sporen des Milzbrandbacillus	5-proz.	2-proz.	+	+	+	+	+	—	20° C	+	+	+	+	+	+	19° C
	10- „	4- „	+	+	+	+	+	—	„	+	+	+	+	+	+	„
	15- „	6- „	+	+	+	+	—	—	„	+	+	+	+	—	—	„
	20- „	8- „	+	+	+	+	—	—	„	+	+	+	+	—	—	„
	25- „	10- „	+	—	—	—	—	—	„	+	+	+	—	—	—	„
Keime aus Gartenerde	5-proz.	2-proz.	+	+	+	+	+	+	„	+	+	+	+	+	+	„
	10- „	4- „	+	+	+	+	+	+	„	+	+	+	+	+	+	„
	15- „	6- „	+	+	+	+	+	+	„	+	+	+	+	+	+	„
	20- „	8- „	+	+	+	+	+	+	„	+	+	+	+	+	+	„
	25- „	10- „	+	+	+	+	+	+	„	+	+	+	+	+	+	„

Wir sehen also, daß sowohl Leim wie andere organische Stoffe von ähnlicher chemischer Zusammensetzung (Gelatine) schon allein imstande sind, sich der bakterienabtötenden Wirkung des Formaldehyds energisch entgegenzustellen, und daß unter den gegebenen Bedingungen diese ihre Eigenschaft sogar sehr scharf hervortritt.

Wenn wir nun die oben dargelegten Ergebnisse übersehen, so liegt auf der Hand, daß, wie energisch bakterientötend die Formaldehydlösungen auch sein mögen, diese Wirkung in der Praxis doch manchen Bedingungen unterworfen ist, die ihr, je nachdem, fördernd oder hindernd in den Weg treten können. Auch wird es sich bei Desinfektion mit gasförmigen Desinfizierungsmitteln nicht anders verhalten, da mit solchen die Bedingungen schwerlich zu erhalten sind, die man mit unmittelbarer Anspritzung einer Formalinlösung auf eine Wand erreichen kann.

Die Verschiedenheit des Verhaltens der Formalinlösungen ist vor allem — wie sich ja voraussehen ließ — an die Natur der Krankheitskeime gebunden, von denen einige die tödliche Wirkung des Formaldehyds leichter, andere schwerer aushalten. Z. B. brauchen die 5-proz. Formalinlösungen auf dem Oelfarbenanstrich 1 Stunde, um den Typhusbacillus und den Choleravibrio, 2 Stunden, um den M. prodigiosus, den Coli-Bacillus und den Milzbrandbacillus, 3 Stunden, um den Staphylococcus pyogenes aureus, den Diphtheriebacillus sowie die Sporen des B. subtilis, des Milzbrandes und die Mikroorganismen der Erde abzutöten. Die gleichen Verschiedenheiten bemerkt man bei Leim- und Kalkanstrichen, nur daß hier die desinfizierende Tätigkeit der Lösungen langsamer und weniger energisch vonstatten geht.

Wenn nun aber diese in der Natur der abzutötenden Bakterien selbst begründeten Bedingungen für die Praxis von Wichtigkeit sind, so ist es andererseits noch viel notwendiger, die Art des Substrats, auf dem die Bakterien sich vorfinden, in Betracht zu ziehen. In der Praxis muß man also vor allem mit dem verschiedenartigen Verhalten der Formaldehydlösungen zum Bakterienmaterial rechnen, ob dieses sich auf einem Oel-, Kalk- oder Leimfarbenanstrich befinde. Auf den sich als glatt, nicht porös und nicht durchlässig darstellenden Oelfarbenanstrichen wirken die Formaldehydlösungen kraftvoll auf die Bakterien und Sporen; sie erreichen hier ihren höchsten Wirkungsgrad. Letzterer ist auf dem Kalkanstrich schon geringer: um hier z. B. die Milzbrandsporen zu zerstören, ist eine mehr konzentrierte Lösung oder eine längere Wirkungszeit nötig, als es beim Oelfarbenanstrich erforderlich wäre, und zur Abtötung der Bacillen des Erdreichs sogar die 5-fache Lösung und die doppelte Zeitdauer.

Beim Kalkanstrich sind außer der physikalischen Beschaffenheit derselben noch die besonderen, mit der Natur seiner Oberfläche zusammenhängenden chemischen Verhältnisse im Spiel. Die bakteriologischen Versuche zeigen hier, daß die Desinfizierung viel langsamer vor sich geht und daß viel stärkere Lösungen erforderlich sind, und daß trotzdem die Desinfizierung manchmal nicht erfolgt. Zum Abtöten aller von mir benutzten vegetativen Formen war auf den Kalkanstrichen ein längerer Zeitraum erforderlich, als mit der gleichen Lösung auf mit Oelfarbe angestrichenen Wänden. Bei einigen Dauerformen (B. subtilis und Milzbrand) braucht man zur Erreichung dieses Zweckes eine noch längere Zeit und eine 4- bis 5-fach stärkere Lösung. Die Mikroorganismen des Erdreichs habe ich nicht einmal durch derart vervielfältigte Zeiträume und verstärkte Lösungen zum Abtöten bringen können. An dieser, von der desinfizierenden Wirkung des Formaldehyds erlittenen Einbuße sind die Stoffe an der Oberfläche der Leimanstriche schuld, da sie das Formaldehyd in bedeutender Menge fixieren.

Besondere Aufmerksamkeit verdienen meine Versuche mit auf verschiedenen Arten Wände angetrocknetem Tuberkelauswurf. Hier scheint die Zerstörung des Tuberkelbacillus weniger an die Beschaffenheit der infizierten Wand und an die Stärke der angewendeten Lösung, als an die Menge der im Auswurf selbst enthaltenen organischen Substanzen, sowie an die Dicke der vom Auswurf auf der Wand gebildeten Schicht gebunden zu sein. Es ist ja auch klar, daß die Bedingungen, unter denen der im Sputum und anderen organischen Stoffen enthaltene Tuberkelbacillus die Wände infiziert, in jedem einzelnen Falle andere sein müssen, wodurch es unmöglich wird, bestimmte Regeln aufzustellen und somit eine sichere Desinfektion zu erreichen. Denn die Schleimstückchen, die diese Bacillen enthalten, trocknen in mehr oder weniger dicken Schichten auf der Wand fest, und beschützen die Bacillen vor dem Auftrocknen und vor anderen ihnen schädlichen Einflüssen, und andererseits treten manche im Auswurf sich vorfindende, organische Substanzen dem Einwirken des Formaldehyds hemmend entgegen. Diese beiden Faktoren, an sich schon sehr veränderlich, haben in unserem Falle auch wirklich die desinfizierende Wirkung des Formaldehyds beeinflußt; Einimpfungen in Versuchstiere haben wiederholt gezeigt, wie der Tuberkelbacillus sowohl auf Oelfarben- als auf Leimfarbenanstrich durch schwächere Lösungen zerstört worden war, aber dann seine Lebensfähigkeit und seine pathogene Eigenschaft auf einigen Stellen behielt, obgleich diese mit viel stärkeren Lösungen behandelt worden waren. Die Verschiedenheit dieser Ergebnisse läßt uns zu dem Schlusse kommen, daß es in der Praxis unmöglich ist, selbst mit 25-proz. Formalinlösungen eine in allen Fällen sichere Desinfektion der mit Tuberkelbacillen infizierten Wände zu erzielen.

Zusammenfassung.

1) Bei gewöhnlicher (Zimmer-)Temperatur haben die Formalinlösungen eine desinfizierende Wirkung auf die Wände, jedoch ist dieselbe verschieden, je nach der Art des Anstriches (Oel-, Kalk- oder Leimfarbe).

2) Auf Oelfarbenanstrich genügt eine Lösung gewöhnlichen 5-proz. flüssigen Formalins (2 Proz. Formaldehyd) zur vollständigen Desinfektion binnen ungefähr 3 Stunden, und zwar für alle von mir benutzten Bakterien, einschließlich der widerstandsfähigsten Sporen.

3) Beim Kalkanstrich genügt die 5-proz. Lösung nur, um die vegetativen Formen in ebenfalls 3 Stunden abzutöten. Für die Sporen bedarf es einer längeren Zeit (5—7—24 Stunden) und für einige muß die Lösung bedeutend stärker sein (10—25 Proz.).

4) Auf dem Leimfarbenanstrich muß die 5-proz. Lösung wenigstens 5 Stunden lang wirken, um alle vegetativen Formen zu zerstören. Die Sporen sterben hier erst nach einer längeren Zeit (7—24 Stunden) und unter Einwirkung stärkerer Lösungen (10—25 Proz.) ab; einige Sporen (Mesentericus) überleben auch diese.

5) Die Bakterien, die bei der Einwirkung des Desinfizierungsmittels ihre Vermehrungsfähigkeit nicht eingebüßt haben, bewahren auch ihre pathogene Eigenschaft in gleichem Maße.

6) Was die auf Wänden angetrockneten, tuberkulösen Schleimauswürfe betrifft, so sind sowohl bei Oelfarben-, als auch bei Kalk- und Leimfarbenanstrichen die Formalinlösungen bis zur Stärke von 25 Proz. nicht imstande, eine sichere Desinfektion zu gewährleisten; der Grund hierfür liegt in der Schutzwirkung, welche die aufgetrockneten organischen Substanzen den Bakterien angedeihen lassen, und die ihrerseits wieder von der Dicke des ausgeworfenen Materials bedingt wird.

Nachdruck verboten.

Die Verwendung der Präzipitation in Form der Schichtungsmethode zur Diagnostik der Rotzkrankheit.

[Aus der Abteilung für Tierhygiene des Kaiser-Wilhelms-Instituts zu Bromberg.]

Von Prof. Dr. **Mießner**, Abteilungsvorsteher.

Durch die Untersuchungen von Kraus¹) ist im Jahre 1897 zuerst festgestellt worden, daß bei der Immunisierung von Tieren in dem Serum derselben spezifische Stoffe — Präzipitine — gebildet werden, welche mit Filtraten von Kulturen derjenigen Bakterien, gegen welche das Tier immunisiert worden ist, einen Niederschlag bilden.

Besonderes Interesse hat die Präzipitation von Eiweißkörpern gewonnen, seitdem durch die Untersuchungen von Tschistowitsch²) und Bordet³) ermittelt wurde, daß es nicht nur durch Einspritzung der Bakterien, sondern auch durch Einspritzung von beliebigen tierischen Eiweißkörpern gelingt, Präzipitine gegen diese Eiweißkörper zu erzeugen. Auf diesem Prinzip beruht die von Uhlenhuth⁴), Wassermann und Schütze⁵) zuerst in die forensische Medizin eingeführte Methode des Nachweises der Herkunft von Blutflecken. Dadurch, daß man beispielsweise einem Kaninchen mehrmals Menschenblut einspritzt, gewinnt das Serum des Kaninchens die Eigenschaft, mit Menschenblut eine Präzipitation zu erzeugen. Diese Präzipitationsmethode hat ferner durch die Arbeiten von Uhlenhuth⁶), Jess⁷), Mießner und Herbst⁸) und anderen Anwendung in der Fleischbeschau gefunden; sie wurde dazu verwendet, um in Würsten, Hackfleisch etc. Verfälschungen mit Pferdefleisch etc. nachzuweisen.

In der Bakteriologie hat die Präzipitation zu serodiagnostischen Zwecken bisher geringe Bedeutung gewonnen, was wohl darauf beruhen mag, daß wir in der Agglutination und in der Komplementbindung

---

1) Wien. klin. Wochenschr. 1897. No. 52.
2) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.
3) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1900.
4) Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 6.
5) Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 7.
6) Dtsche med. Wochenschr. 1901. No. 45.
7) Berl. Tierärztl. Wochenschr. 1901. No. 42.
8) Arch. f. prakt. u. wissenschaftl. Tierheilk. 1902.

Methoden besitzen, welche zu demselben Ziele führen wie die Präzipitation, aber viel sinnfälliger zu beobachten sind.

Auf die Präzipitation zur Diagnose der Rotzkrankheit ist von Dediulin[1]) und Wladimiroff[2]) nur hingewiesen, indessen sind genauere Versuche bisher nicht gemacht worden, auch fehlen Angaben, ob sich diese Methode praktisch bewährt hat.

Im hiesigen Institut ist seit längerer Zeit versucht worden, die Präzipitation zur Diagnose der Rotzkrankheit zu verwenden. Die Versuche scheiterten aber meist daran, daß die beim Zusammenbringen von Rotzbacillen mit Serum rotzkranker Pferde entstehenden Niederschläge sich wenig von den Niederschlägen mit dem Serum nicht rotzkranker Pferde unterschieden. Infolgedessen war es nicht möglich, aus der Art des Niederschlages ein Urteil darüber zu gewinnen, ob das untersuchte Serum von einem rotzfreien oder rotzkranken Pferde stammte. Dieser spezifische Niederschlag sollte nach dem Mischen des Serums mit der Bakterienflüssigkeit entstehen.

Ich habe nun versucht, ob es nicht in anderer Weise gelingt, eine sichtbare spezifische Präzipitation zu erzeugen und dabei die Schichtungsmethode angewandt. Diese Methode ist zueret von Ascoli[3]), welcher zwei Sera übereinander schichtete und eine Ringbildung wahrnahm, benutzt worden. Fornet, Schereschewsky, Eisenzimmer und Rosenfeld[4]) schichteten Serum von Syphilitikern mit Serum normaler Individuen, Michaelis[5]) mit Luesextrakt übereinander und beobachteten in der Ringbildung eine spezifische Präzipitinreaktion, welche Ansicht von Plaut, Heuck und Rossi[6]), sowie von Fukuhara[7]) nicht geteilt wird. Im Gegensatz zu der Mischungsmethode, bei welcher beide Flüssigkeiten zusammengemischt werden, läßt man hier die beiden Flüssigkeiten vollkommen getrennt, indem man die leichtere vorsichtig auf die schwerere aufschichtet. Die Röhrchen bleiben etwa 2 Stunden lang im Thermostaten bei 37° und nach Ablauf dieser Zeit wird die Berührungsfläche der beiden Schichten beobachtet. Im Falle einer Präzipitation entsteht an der Berührungsfläche ein trüber, ca. 1 bis 1½ mm breiter Ring, welcher ausbleibt, wenn beide Flüssigkeiten nicht im Sinne der Präzipitation aufeinander einwirken. Dieser Präzipitationsring hält sich annähernd 20 Stunden lang. Die Schichtungsmethode ist in größerem Umfange an dem Serum einer Anzahl rotziger und rotzfreier Pferde ausgeführt worden und hat dabei zu ermutigenden Resultaten geführt.

Als Bakterienflüssigkeit ist einmal eine Bakterienaufschwemmung von abgetöteten Rotzbacillen (100 ccm 0,9-proz. Kochsalzlösung auf ein Agarröhrchen) benutzt worden, wie sie im hiesigen Institute zur Ausführung der Agglutinationsprüfung zwecks Feststellung der Rotzkrankheit angewendet wird. Ferner stellten wir Bakterienextrakte in der Weise her, daß die abgetöteten und in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Rotzbacillen mehrere Tage lang in einem Schüttelapparat geschüttelt und die Bakterien durch Zentrifugieren entfernt wurden. Endlich habe ich das im Handel käufliche Malleinum siccum Foth benutzt. Dieses wurde in verschiedenen Mengen physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst.

Die Versuche wurden zunächst mit frischem Serum gesunder Pferde, ferner mit dem eines künstlich durch subkutane Injektion von Rotz-

---

1) Arch. f. Veterinärwissensch. 1899. Zitiert nach Kolle-Wassermann.
2) St. Petersburger med. Wochenschr. 1900. Zitiert nach Kolle-Wassermann.
3) Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 5.
4) Deutsche med. Wochenschr. 1907. p. 1679.
5) Berl. klin. Wochenschr. 1907. p. 1477.
6) Münch. med. Wochenschr. 1908. p. 66.
7) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. 2. 1909. p. 303.

bacillen rotzkrank gemachten Pferdes ausgeführt. Hierbei ergab sich, daß sich die gewöhnlich für die Agglutination verwendete Testflüssigkeit wegen ihrer trüben Beschaffenheit zu den Versuchen schlecht eignet. Bessere Resultate haben die Bakterienextrakte gezeitigt. Gleich gut sichtbare Reaktionen ergeben endlich die Malleinaufschwemmungen. Diese haben vor den Bakterienextrakten den Vorzug, daß das zu ihrer Herstellung verwendete Mallein jederzeit zur Verfügung steht und sich in geringen Mengen physiologischer Kochsalzlösung klar löst. Für den Versuch benutzte ich kleine Reagensröhrchen, die in den Uhlenhuthschen Ständern Aufstellung fanden. Zuerst wurde jedes Röhrchen mit etwa $^1/_2$ ccm des Serums bezw. des verdünnten Serums beschickt und dann die Bakterienflüssigkeit vorsichtig mit Hülfe einer zu einer Kapillare ausgezogenen Pipette auf das Serum geschichtet. Bei der Schwere des Serums gegenüber der Bakterienflüssigkeit gelingt diese Schichtung stets ohne sonderliche Schwierigkeiten. Die Röhrchen kamen hierauf 2 Stunden lang in einen auf 37° gehaltenen Thermostaten; alsdann wurden sie auf das Vorhandensein eines sogenannten Präzipitationsringes geprüft. Dieser Präzipitationsring war bei rotzigen Seren stets deutlich und hielt sich mindestens 20 Stunden lang in voller Schärfe.

Von Wichtigkeit für den Ausfall der Reaktion ist die Konzentration, in welcher das Mallein und das Serum zu verwenden sind. Es wurde zuerst eine Dosis des im Handel käuflichen Malleins (0,025 g) in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst. Das Ergebnis der Präzipitation zeigt folgende Tabelle:

Frisches rotzfreies Serum Ohne Konservierungsmittel	1:10	+	Mallein 1:10	Nach 20 Stunden Berührungszone völlig klar
	1:4	+	„ 1:10	
	1:1	+	„ 1:10	
Frisches rotziges Serum Von einem akut rotzigen Pferde	1:10	+	„ 1:10	Nach 2 Stunden bei 37° deutlicher Präzipitationsring, welcher auch nach 20 Stunden unverändert geblieben ist. Der Ring nimmt an Dichte zu, je konzentrierter das Serum ist.
	1:4	+	„ 1:10	
	1:1	+	„ 1:10	

Nahmen wir statt der Malleinverdünnung von 1:10 eine solche von 1:5, so entstanden auch zuweilen bei normalen Seris trübe Ringe, durch welche die Beurteilung erschwert wird. Verwenden wir eine Verdünnung des Malleins von 1:20, so wird zuweilen der Präzipitationsring bei rotzigen Seris undeutlich. Hiernach erscheint die Aufschwemmung einer Malleindosis mit 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung die für die Präzipitationsversuche geeignete Konzentration zu sein. Ich konnte ferner in allen Fällen die Beobachtung machen, daß ein oder zwei Tage alte Malleinlösungen stets trübe wurden und dadurch das Bild der Präzipitation verwischten. Aus den vorstehenden Versuchen geht mithin hervor, daß für die Präzipitation nur frische Malleinlösungen in der Konzentration von 1:10 brauchbar sind.

In ähnlicher Weise wurde geprüft, welche Serumverdünnungen für die Ausführung der Präzipitation am geeignetsten sind. Hierbei haben Verdünnungen mit 9 Teilen physiologischer Kochsalzlösung die Präzipitation häufig nur undeutlich gezeigt, während Verdünnungen von 1:4 bezw. unverdünnte Sera stets eindeutige Resultate ergaben. Weil der Präzipitationsring am deutlichsten hervortritt und der Einfachheit wegen verwenden wir unverdünnte Sera. Man erspart auf diese Weise das bei Prüfung einer größeren Menge verschiedener Sera immerhin zeitraubende Verdünnen.

Während die ersten Versuche mit frischem, nicht konserviertem Serum gesunder bezw. akut rotzkranker Pferde ausgeführt wurden, kam es ferner darauf an, festzustellen, wie sich alte, durch Zusatz von Karbolsäure vor Fäulnis geschützte Sera gesunder oder akut bezw. chronisch

Laufende No.	Nummer des Pferdes	Alter des Serums	Alter der Rotzkrankheit	Konzentration d.		Agglutinationswert	Komplementbindung	Präzipitation	
				Serums	Malleins			nach 2 Std. bei 37°	nach 24 Std.
1	L 70	2 Tage	rotzfrei	1 : 1	1 : 10	300	—	—	—
2	L 30	3 „	„	„	„	200	—	—	—
3	L 809	2 „	„	„	„	400	—	—	—
4	Storsa	4 „	„	„	„	200	—	—	—
5	N 1	2 „	„	„	„	300	—	—	—
6	N 2	2 „	„	„	„	500	—	—	—
7	N 3	2 „	„	„	„	400	—	—	—
8	N 4	2 „	„	„	„	200	—	—	—
9	N 5	2 „	„	„	„	200	—	—	—
10	N 6	2 „	„	„	„	200	—	—	—
11	N 7	2 „	„	„	„	100	—	—	—
12	N 8	2 „	„	„	„	300	—	—	—
13	N 9	2 „	„	„	„	600	—	—	—
14	N 10	2 „	„	„	„	400	—	—	—
15	N 11	2 „	„	„	„	500	—	—	—
16	N 12	2 „	„	„	„	200	—	—	—
17	N 13	2 „	„	„	„	300	—	—	—
18	N 14	2 „	„	„	„	300	—	—	—
19	N 15	2 „	„	„	„	200	—	—	—
20	N 16	2 „	„	„	„	500	—	—	—
21	N 17	2 „	„	„	„	600	—	—	—
22	N 18	2 „	„	„	„	400	—	—	—
23	St 24 + 0,5 Karbolsäure	5 Mon.	„	„	„	400	0,05	—	—
24	St 26 + 0,5 „	5 „	„	„	„	300	—	—	—
25	St 22 + 0,5 „	5 „	„	„	„	400	—	—	—
26	St 47 + 0,5 „	5 „	„	„	„	300	—	—	—
27	H 5 + 0,5 „	5 „	„	„	„	400	—	—	—
28	St 52 + 0,5 „	5 „	„	„	„	300	—	—	—
29	K 2 + 0,5 „	5 „	„	„	„	300	—	—	—
30	K 3 + 0,5 „	5 „	„	„	„	200	—	—	—
31	St 50 + 0,5 „	5 „	„	„	„	300	0,1	—	—
32	St 46 + 0,5 „	5 „	„	„	„	300	—	—	—
33	St 5 + 0,5 „	5 „	„	„	„	400	—	—	—
34	H 9 + 0,5 „	5 „	„	„	„	400	—	—	—
35	Sch 7 + 0,5 „	5 „	„	„	„	300	—	—	—
36	L 71 3 Tage nach Infektion	8 Tage	akut rotzkrank	„	„	400	—	—	—
37	L 71 12 „ „ „	2 „	„ „	„	„	2000	0,01	++	++
38	L 71 + 0,5 Karbolsäure	2 „	„ „	„	„	2000	0,01	++	++
39	H 14 + 0,5 „	5 Mon.	„ „	„	„	2000	0,01	+++	+++
40	H 4 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	2000	0,02	+++	+++
41	H 5 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	2000	0,01	+++	+++
42	H 6 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	1500	0,01	+++	+++
43	H 3 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	1500	0,01	+	+
44	H 2 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	2000	0,05	++	++
45	H 10 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	2000	0,05	++	++
46	S + 0.5 „	4 „	„ „	„	„	1000	0,05	+	+
47	H 11 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	1000	0,05	+	+
48	M 1 + 0,5 „	4 „	„ „	„	„	1000	0,02	+	+
49	St 41 + 0,5 „	5 „	chron. rotzkrank	„	„	800	0,02	+	+
50	St 38 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	800	0,02	++	++
51	St 36 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	800	0,01	+	+
52	H 15 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	800	0,1	+	+
53	H 7 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	600	0,02	+	+
54	St 29 + 0,5 „	5 „	„ „	„	„	500	0,02	+	+

rotzkranker Pferde bei der Präzipitation verhalten. Um ein Urteil zu haben, ist in folgender Tabelle der Agglutinationswert des betreffenden Serums angegeben. Durch die Versuche von Schütz und Mießner[1]) ist festgestellt worden, daß rotzkranke Pferde, deren Serum in einer Verdünnung von 1:500 bis 1:800 agglutiniert mit dem chronischen Rotze behaftet sind, während Agglutinationswerte von 1:1000 und darüber auf ein kürzeres Bestehen der Rotzkrankheit deuten. Der Vollständigkeit wegen ist endlich auch die Komplementbindung der betreffenden Sera nach der Methode von Schütz und Schubert[2]) geprüft. Die in dieser Rubrik angegebenen Zahlen bedeuten die kleinste Menge des Serumzusatzes, durch welchen noch das Komplement gebunden, also die Hämolysis gehemmt wird. Ein — bedeutet keine Komplementbindung, also vollständige Hämolysis. In der Rubrik Präzipitation ist durch — das Ausbleiben des Präzipitationsringes, durch + ein schwacher, ++ starker und +++ sehr scharfer Präzipitationsring bezeichnet (s. Tabelle p. 188).

Aus der Tabelle ergibt sich, daß weder der Karbolzusatz noch das Alter des Serums einen Einfluß auf den Ausfall der Reaktion haben, denn wir sehen, daß unkonservierte frische Sera in gleicher Weise reagieren wie konservierte frische und alte Sera. Dagegen müssen die Sera chronisch rotziger Pferde weniger Präzipitine enthalten als diejenigen akut rotzkranker Tiere, nur so ist es zu erklären, daß in den meisten Fällen der Präzipitationsring in dem Serum frisch rotziger Pferde bedeutend schärfer als in dem mit chronischem Rotz behafteter Tiere hervortritt. Sobald die Pferde rotzfrei sind, bleibt der Präzipitationsring des Serums dieser Tiere aus.

Dabei soll nicht verschwiegen werden, daß man bei manchen Seren an der Berührungsfläche der Malleinlösung und des Serums eine leicht getrübte Zone beobachtet, die durch Vermischung der beiden Flüssigkeiten entstanden ist. Diese Zone unterscheidet sich aber durch ihre geringe Trübung und Schärfe wesentlich von dem eigentlichen Präzipitationsring. Für den Geübteren ist die Beurteilung, ob das Phänomen durch einen wirklichen Präzipitationsring oder nur durch eine leicht getrübte Mischzone dargestellt wird, nicht schwierig. Nur bei sehr altem Rotz kann es gelegentlich vorkommen, daß der Unterschied zwischen einem Präzipitationsring und einer gewöhnlichen Mischzone undeutlich wird, und hierin teilt auch die Präzipitation die Nachteile mit den übrigen Methoden, daß nämlich zuweilen in den Fällen von chronisch rotzigen Erkrankungen die Diagnose Schwierigkeiten bereitet. Vor der Agglutination und Komplementbindung zeichnet sich die Präzipitation bei Verwendung der Schichtungsmethode durch ihre große Einfachheit aus: Das Abmessen bestimmter Mengen fällt weg; das Serum wird unmittelbar in das Reagensröhrchen gegossen und mit Hilfe einer Kapillarpipette, die man sich durch Ausziehen eines Reagensglases in der Flamme herstellen kann, wird die Malleinlösung aufgeschichtet.

Die Präzipitation in Form der Schichtungsmethode bietet ein weiteres Hilfsmittel zur Diagnostizierung der Rotzkrankheit, welches wegen seiner großen Einfachheit Beachtung verdient.

Zusammenfassung:

Durch Aufschichten von Rotzbacillenextrakt oder von Malleinum siccum Foth (1:10) auf das Serum eines rotzigen Pferdes entsteht ein Präzipitationsring, welcher ausbleibt bei Verwendung von Seren rotzfreier Pferde.

---

1) Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1905.

2) Arch. f. wissenschaftl. u. prakt. Tierheilk. 1909.

Nachdruck verboten.

Zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbakterien.

[Aus dem staatl. Hygienischen Institute zu Hamburg (Direktor: Prof. Dr. Dunbar).]

Von Dr. **F. Guth.**

Mit 1 Tafel.

Mit einer Arbeit über die Zersetzung von Kohlehydraten durch Coli-Bakterien verschiedener Herkunft beschäftigt, suchte ich nach einem Nährboden, der die säurebildenden, das betreffende Kohlehydrat zersetzenden Bakterien deutlich hervortreten ließe, auch bei künstlicher Beleuchtung, und der sich nach längerem Aufbewahren bei gewöhnlicher Temperatur und im Brutschrank nicht veränderte. Die von Drigalski-Conradi und von Endo empfohlenen Nährböden erfüllen diese Bedingungen nicht vollständig. Auf den Drigalski-Platten sind die den Lackmusfarbstoff verändernden Kolonieen von den anderen bei künstlichem Licht überhaupt nicht, bei Tageslicht nicht immer leicht zu unterscheiden. Der Endosche Fuchsinagar ist unter Umständen nur kurze Zeit haltbar; es tritt Rotfärbung ein, besonders beim Stehen der Schalen im Brutschrank, und die Erkennung der verschiedenen Bakterienkolonieen ist dann oft schwierig. Als sehr brauchbar für meine Zwecke fand ich einen Alizarin-Fleischwasseragar. Dieser ist auch für den Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen sehr geeignet, wenn als Kohlehydrat Milchzucker verwendet wird. Die Herstellung geschieht nach folgender Vorschrift, die genau befolgt werden muß. Es sind erforderlich:

1) 1 l Fleischwasseragar.
   In 1 l Rind- oder Pferdefleischwasser werden 30 g Stangenagar, 10 g Pepton und 5 g Kochsalz gelöst.
2) Eine Lösung von 0,6 g Natriumhydroxyd und 0,8 g Alizarin [1]) in 100 ccm destilliertem Wasser; man hält die Mischung einige Minuten im Sieden.
3) 10 g Milchzucker in 20—30 ccm Wasser gelöst.

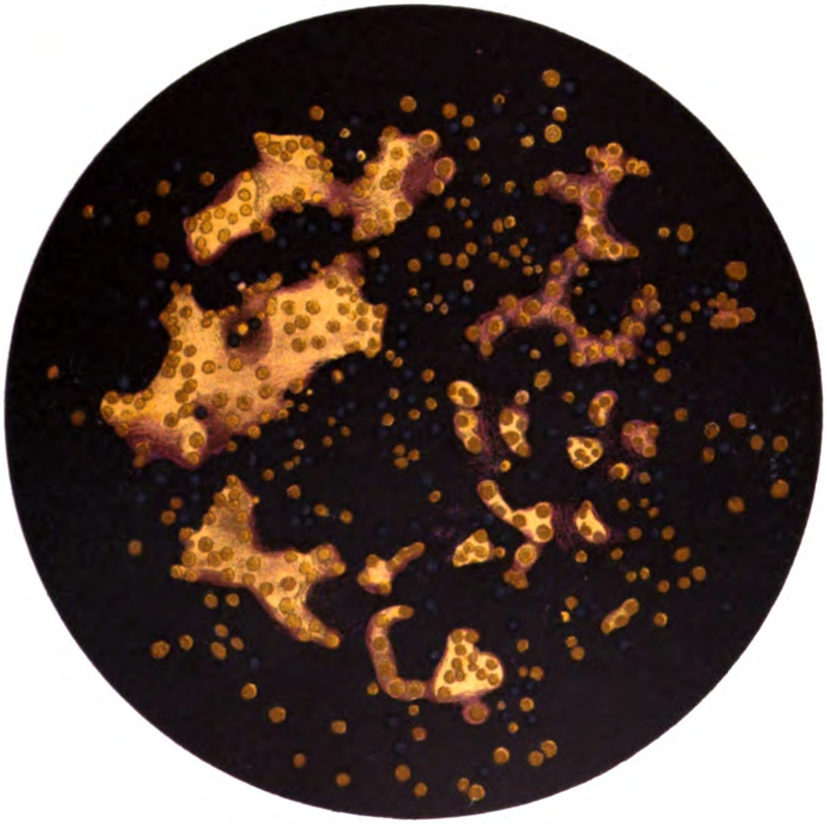
Der Fleischwasseragar darf keine suspendierten Flocken enthalten, er muß klar sein und eine Alkalität von 0,02—0,03 Proz. haben, 100 ccm müssen nach Zusatz von 5—7 ccm Zehntelnormalsäure auf Lackmuspapier neutral resp. amphoter reagieren. Ist die Alkalität nicht genügend, so setzt man Natronlauge (nicht Sodalösung) hinzu (1 ccm Normalnatronlauge = 0,04 Proz. Alkalität).

Die Milchzucker- und die heiße Alizarinlösung werden dem flüssigen alkalisierten Agar hinzugefügt. Die Farbe des Nährbodens ist dunkelblau mit einem Stich ins Rötliche, zeigt er einen bräunlichen Ton, so war der Fleischwasseragar nicht genügend alkalisch. Da die Färbung sich dann nur durch einen verhältnismäßig großen Zusatz von Alkali korrigieren läßt, so tut man am besten, zunächst eine Probe mit 50 ccm Agar und 5 ccm Alizarinlösung zu machen, und der Hauptmenge des Agars dann eventuell noch etwas Natronlauge zuzusetzen, bevor man die drei Lösungen zusammengießt. Die fertige Mischung wird nochmals 30 Minuten im strömenden Dampf sterilisiert. Da das Alizarin nicht gelöst, sondern nur suspendiert ist, so muß man vor dem Plattengießen

---

[1]) Es ist nicht nötig, das teure sublimierte Alizarin zu nehmen, ein von **Kahlbaum** bezogenes Alizarin trocken (100 g M. 2,20) erfüllte bei meinen Untersuchungen denselben Zweck.

Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. I. Orig. Bd. 51. *Guth, Typhus- und Paratyphusbakterien.*



Guth gez.
Verlag von Gustav Fischer in Jena
Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

gut umschwenken (man nimmt zweckmäßig für 1 l Nährboden einen $1^1/_2$—2 l-Rundkolben), um den Farbstoff möglichst fein zu verteilen.

Coli- und Typhusbacillen als Repräsentanten der Milchzucker zersetzenden und nicht zersetzenden Bakterien sind auf diesem Nährboden nach 20—24 Stunden selbst für wenig geübte Untersucher leicht zu unterscheiden. Die säurebildenden Kolonieen, auch wenn sie ziemlich dicht stehen, beeinflussen die anderen verhältnismäßig wenig. B. coli färbt den Nährboden gelb und hellt ihn auf, Typhusbacillen, die grau-blaue Kolonieen bilden, lassen ihn undurchsichtig (siehe Abbildung). Die Angehörigen der Paratyphus-Enteritisgruppe wachsen wie Typhusbacillen, die Kolonieen sind aber wie auf allen Nährböden meist größer und weniger zart.

Besondere Versuche zielten darauf hinaus, die säurebildenden Faecesbakterien auf den Alizarinagarplatten möglichst zu unterdrücken. Ein Zusatz von 0,33 Proz. Koffein, wie ihn Gaehtgens (1) beim Endoschen Agar mit Erfolg anwandte, erwies sich als ganz zwecklos; ich habe in keinem Falle eine Wachstumsbehinderung feststellen können. Kristallviolett, das Drigalski vorschreibt, ist hier nicht geeignet, weil dann die Farbenunterschiede bei den verschiedenen Kolonieen nicht deutlich hervortreten. Gute Erfolge habe ich mit dem von Loeffler (2) zuerst vorgeschlagenen Malachitgrün erzielt. Dem fertigen Alizarinagar wurden auf je 100 ccm 1,7 ccm einer 0,1-proz. Malachitgrünlösung zugesetzt.

Auf den gewöhnlichen Malachitgrünplatten treten die säurebildenden Bakterien nicht hervor. Man hat deshalb mehrfach versucht, durch Zusatz von Malachitgrün zum Drigalski-Agar direkt eine Unterscheidung der verschiedenen Kolonieen durch Veränderung des Farbstoffes herbeizuführen; die unter anderen von Reischauer (5) und von Fürth (6) angestellten Untersuchungen verliefen aber ergebnislos. Die säurebildenden Kolonieen waren nicht zu erkennen. Die von Reischauer gegebene Erklärung, daß die Coli-Bakterien durch den Malachitgrünzusatz ihre Fähigkeit Zucker zu spalten verlieren, ist nicht richtig, die Ursache ist nur darin zu suchen, daß das Malachitgrün auf den Lackmusagarplatten die Farbenunterschiede verwischt. Auf den Malachitgrün-Alizarinagarplatten heben sich die säurebildenden Kolonieen deutlich ab, sie färben den Nährboden hellgrün und hellen ihn auf. Ich verwendete für meine Versuche die von Leuchs (3) empfohlene Marke „Kristalle extra“ (Höchst). Trotz der hohen Alkalität des Nährbodens trat eine Ueberführung des Malachitgrüns in die Leukobase und damit verbundener Verlust der entwickelungshemmenden Eigenschaften nicht ein. Lentz und Tietz (4), die „Malachitgrün I“ benutzten, konstatierten bei einer Alkalität von 1 Proz. Normalnatronlauge Aufhellung des Nährbodens infolge Reduktion des Farbstoffes.

Die Coli-Bakterien werden auf den Malachitgrün-Alizarinplatten meistens im Wachstum stark gehemmt, auf der zweiten und dritten Platte zuweilen ganz unterdrückt; ebenso wie Fürth konnte aber auch ich feststellen, daß bei manchen Stämmen eine Wachstumsbehinderung kaum zu bemerken ist. Auch die Typhusbacillen werden in ihrer Entwickelung erheblich geschädigt, allerdings in der Regel lange nicht in dem Maße wie B. coli. Die Kolonieen treten meist erst nach 40 bis 48 Stunden deutlich hervor. Die einzelnen Typhusstämme verhalten sich verschieden, eine vollständige Unterdrückung, wie sie Vial (7), der oxalsaures Salz verwandte, feststellen konnte, habe ich aber auch bei älteren Stämmen nicht beobachten können. Paratyphusbakterien wachsen bedeutend besser und sind in der Regel nach 24 Stunden deutlich erkennbar.

Um das Wachstum der Typhuskolonieen zu beschleunigen, hat

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Leuchs einen Zusatz von Dextrin empfohlen. Ich benutzte für diese Versuche einen Nährboden, der auf 100 ccm Alizarinagar 1 g chemisch reines Dextrin und 3 ccm 0,1-proz. Malachitgrünlösung enthielt. Dieses Mengenverhältnis schien am günstigsten zu sein. Die Typhuskolonieen werden dann allerdings in der Entwickelung kaum gehemmt, der Dextrinzusatz hat aber den bedenklichen Nachteil, daß dadurch die Wirkung des Malachitgrüns auf die Darmbakterien ganz erheblich eingeschränkt wird.

Bei Untersuchungen von Typhusstuhl auf dem Alizarin-Milchzucker-Agarnährboden empfehle ich für jede Probe 6 Petri-Schalen anzusetzen, wovon die ersten drei mit Malachitgrünzusatz hergestellt sind. Sind nach 24 Stunden auf den drei letzten Platten Typhuskolonieen nicht zu bemerken, so läßt man die drei ersten Platten weitere 20 bis 24 Stunden im Brutschrank stehen. Das Verfahren erweist sich nach meinen bisherigen Untersuchungen als durchaus brauchbar. Es wäre aber wünschenswert, daß Nachprüfungen an größerem Material angestellt würden.

Daß die gebräuchlichen Nährböden noch verbesserungsbedürftig sind, beweisen die zahlreich erscheinenden Arbeiten über Stuhluntersuchungsmethoden. Unzulänglich allerdings wird der Nachweis von Typhusbacillen im Stuhl, von dem beim Plattenverfahren immer nur eine geringe Menge verwendet werden kann, bleiben, so lange es nicht ein wirkliches Anreicherungsmittel gibt; die bis jetzt bekannten hemmen entweder nicht nur das Wachstum der Darmbakterien, sondern auch das der Typhusbacillen, wie Kristallviolett und Malachitgrün, oder aber, sie fördern die Entwickelung beider, wie die gallensauren Salze.

Ein Laktose-Fleischwasseragar mit Alizarinzusatz als Indikator hat sich als sehr brauchbar erwiesen zum Nachweis von Coli- und Typhus- bezw. Paratyphusbakterien.

Der Nährboden hat vor dem Drigalski- und dem Endo-Agar gewisse Vorteile.

Ein Zusatz von Malachitgrün hat eine hohe colihemmende Wirkung, läßt aber die Typhuskolonieen erst nach 40—48 Stunden deutlich hervortreten.

Literatur.

1) Gaehtgens, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 39. Heft 5.
2) Loeffler, Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 3.
3) Leuchs, Dtsche med. Wochenschr. 1906.
4) Lentz u. Tietz, Beiträge zur Typhusforschung. (Kleins Jahrb. 1905.)
5) Reischauer, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 39. Heft 1.
6) Fürth, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 46. Heft 1.
7) Vial, Hyg. Rundschau. Bd. 17. 1907. No. 12.

Inhalt.

Bail, Oskar, Ueber die Agglutinationswirkung des normalen Rinderserums, p. 170.
Ciaccia, Matteo, Ueber die desinfizierende Wirkung der Formaldehydlösungen auf die Wände der Wohnungsräume, p. 178.
Dahm, Serologische Untersuchungen bei der Variola vera, p. 136.
Eisenberg, Ph., Weitere Untersuchungen über Fetteinschlüsse bei Bakterien, p. 115.
Fornet, W. u. Porter, A. E., Opsonine und Antiopsonine in ihrer Wirkung auf Tuberkelbacillen, p. 138.
Goldzieher, Max u. **Neuber, Eduard,** Untersuchungen über das Rhinosklerom, p. 121.
Guth, F., Zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbakterien, p. 190.
Hahn, Martin, Die Bestimmung und meteorologische Verwertung der Keimzahl in den höheren Luftschichten, p. 97.
Mießner, Die Verwendung der Präzipitation in Form der Schichtungsmethode zur Diagnostik der Rotzkrankheit, p. 185.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 51. Heft 3.

Nachdruck verboten.

Entwickelungszyklus des Bacillus nitri sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien.

[Aus dem k. k. Hygienischen Institute des Prof. Dr. Gustav Kabrhel in Prag[1]).]

Von **Adolf Ambrož.**

Mit 2 Tafeln.

Die Frage von der Existenz und Bedeutung des Kernes bei den niedersten Organismen ist nicht nur eine der brennendsten Fragen der allgemeinen Biologie, sondern auch für die Phylogenese und Systematik dieser Organismen von großer Bedeutung.

Ich habe mich mit diesen Fragen bei Gelegenheit einer systematischen Bakterienuntersuchung beschäftigt, und erlaube mir die Resultate meiner Beobachtungen im nachfolgenden darzulegen.

Als Beobachtungsobjekt diente mir Bacillus nitri sp. n. In einer 5-proz. Natriumsalpeterlösung traten Saccharomyceten und Algen auf. Zwecks Isolierung dieser Saccharomyceten wurden Gelatineplatten gegossen, auf welchen bald Kolonieen des erwähnten Bacillus erschienen, welcher durch seine großen Dimensionen zu cytologischen Studien vorzüglich geeignet erschien.

Es gelang mir trotz aller Mühe nicht, diesen Bacillus zu identifizieren, und darum stelle ich ihn vorläufig als eine neue Species auf; sein Name leitet sich vom Fundorte her. Ich bin gerne bereit, allen, die sich für den Bacillus nitri näher interessieren möchten, eine Kultur desselben zur Verfügung zu stellen.

Beschreibung des Bacillus nitri.

Was die morphologischen Merkmale des Bac. nitri anbelangt, so ist folgendes zu konstatieren: Der Bacillus ist, im Durchschnitte genommen, ein ziemlich plumpes Stäbchen, doch ist die Form desselben je nach dem Kultivationsmedium sehr variabel. So bietet Agar-Agar die konstantesten Stäbchenformen dar, bei welchen die Länge zur Breite etwa im Verhältnis von 3:1 steht; auf der Fleischpeptongelatine sind die Formen dicker und kürzer, das Verhältnis der Länge zur Breite etwa 2:1 oder $1^1/_2:1$; die Formen der Milchkultur entsprechen morphologisch denjenigen vom Agar. Auf der Kartoffel und auf erstarrtem Blutserum begegnen wir langfädigen und dünnen Formen.

Wie die Formen, so variieren auch die Dimensionen des Bacillus nitri sehr, je nach dem Nährboden. Man kann sagen, daß die relativ konstanten Dimensionen des Bac. nitri durchschnittlich zwischen 2—3 μ Breite und 3—8 μ Länge schwanken; doch muß ich bemerken, daß die Formen, die ich durch Ueberimpfen aus der 5-proz. Natriumsalpeterlösung auf den Nährboden in den ersten Generationen erlangte, viel größer waren, daß aber ihre Größe mit der Zahl der Generationen allmählich etwa um die Hälfte bis zu den obigen Werten abnahm. Meine hauptsächlichsten Beobachtungen habe ich zu der Zeit angestellt, wo Bac. nitri noch seine ursprünglichen großen Dimensionen besaß.

---

[1]) Der böhm. Kaiser Franz Joseph-Akademie der Wissenschaften vorgelegt am 30. April 1909.

Bacillus nitri ist eine sporogene Species; die Sporen werden polar gebildet.

Bacillus nitri produziert einen gelben bis gelbbraunen Farbstoff, doch nur in den späteren Entwickelungsstadien, und besonders auf der Kartoffel, auf dem gewöhnlichen und auf dem Zuckeragar.

Kultivationsresultate.

Auf Gelatineplatten bildet Bac. nitri reinweiße, nierenförmige, regelmäßig scharf begrenzte Kolonieen, welche an den Rändern schwach durchscheinend und bei besonderer Einstellung der mikrometrischen Schraube fein gestreift erscheinen. Die Gelatine wird sehr rasch verflüssigt.

Der Gelatinestich wird bald und rasch verflüssigt, so daß am 3. Tag die becherförmig geformte, verflüssigte Zone bereits eine $^3/_4$ cm tiefe Schicht bildet. Der vom Grunde der verflüssigten Schicht nach unten ausgehende Stichkanal ist mit kleinen, isolierten Kolonieen erfüllt.

Auf Glyzeringelatineplatten bildet Bac. nitri gleichfalls weiße, nierenförmige, jedoch kleinere Kolonieen, die in der Einkerbung mit einem Nabel versehen sind, gröber granuliert erscheinen und den Nährboden intensiv verflüssigen.

Der Glyzeringelatinestich verhält sich der gewöhnlichen Gelatine konform.

Die Agarplattenkolonieen sind ein wenig größer, anfangs gleichfalls reinweiß, später graugelb bis gelb, mehr granuliert und mit konzentrischer Streifung versehen.

Auf schrägem Agar erscheint ein grauer, später graugelber und schließlich gelber dichter Belag von mattem Glanz. Das Wachstum geht sehr rasch vor sich.

Noch intensiver ist der Wuchs auf der Kartoffel, auf welcher der Belag durch seinen Habitus gänzlich demjenigen vom Agar ähnelt, bis auf den Unterschied, daß er früher in die gelbe bis gelbbraune Farbe übergeht und eine viel stärkere Schicht bildet.

Auf Endos Nährboden gedeiht Bac. nitri sehr gut, und manifestiert durch schwach rosige Färbung der Kolonieen eine schwache Säureproduktion.

Auf dem Nährboden von Drigalski gedeiht er nicht.

In der Milch wächst Bac. nitri sehr gut, aber wegen zu schwacher Säureproduktion kommt es zu keiner Gerinnung desselben.

Auf Blutserum vegetiert er gleichfalls sehr üppig, indem er langfädige Formen bildet.

Auf Zuckeragar bildet Bac. nitri gelbgefärbte Kolonieen, welche denen vom gewöhnlichen Agar sehr ähnlich sind.

Es gelang mir, den Bac. nitri auch in mit Bouillon vermischter Galle zu züchten.

In Bouillon vegetiert er sehr üppig, indem er an der Oberfläche eine schwache Oberhaut und unten ein Sediment bildet.

Was die Temperatur anbelangt, so kann man die Optimumgrenze zwischen 35—47° C legen. Es handelt sich somit um eine thermophile Art. Auf der Kartoffel manifestiert unser Bacillus eine enorme Tendenz zur Bildung von sporoiden Körpern, was einer ähnlichen Erscheinung entspricht, die **Růžička** (51d) bezüglich des **Bacillus anthracis** bei Kultivation auf Glyzerinagar beschrieb.

Bemerkungen über die Untersuchungsmethodik.

Was die von mir benützten Präparationsmethoden anbelangt, so verfolgte ich, insofern es sich nicht um spezifische, von verschiedenen Autoren im Bakterienkörper beobachtete Formationen, wie z. B. die Bungeschen und Krompecherschen Körper usw. handelte, eine sehr einfache Methode, indem ich mir die zwar alte, aber immer noch geltende Regel vor Augen hielt, daß man mit kleineren Mitteln oft viel mehr verrichten kann, als mit umständlichen, komplizierten Verfahren.

Zur Fixation der Präparate diente mir konzentrierte HCl_2-Lösung, welche eines der einfachsten, aber mit Bezug auf die Bakterienstrukturen, wie auch **Růžička** (49b) angab, verläßlichsten Fixationsmittel bildet.

Hinsichtlich der Tinktion blieb ich nach verschiedenen Versuchen bei der Tinktion nach Giemsas Methode, welche tinktoriell sehr differenzierte, und wie ich mich durch mikrochemische Versuche und Beobachtungen intra vitam überzeugt habe, auch ganz verläßliche Bilder darbietet.

Wenn Guilliermond (21a. p. 16) sagt: „le bleu Borrel et le Giemsa donnent des résultats presque aussi bon que l'hématoxyline ferrique“ — muß ich bemerken, daß meine Erfahrungen dieser Behauptung nicht entsprechen. Eisenhämatoxylin der Giemsaschen Methode vorzuziehen, scheint mir deshalb unstatthaft, weil einesteils die Giemsasche Methode, was Zeit und Ausführung anbelangt, viel einfacher ist, und weil anderenteils bei der Färbung mit Heidenhains Eisenhämatoxylin mit der Entfärbung operiert wird, welche bei mikroskopischen Objekten von so geringen Dimensionen, wie es die Bakterien sind, leicht zu Irrtümern Anlaß geben kann. Es ist nämlich schwer, denjenigen Grad der Entfärbung durch die Beize festzustellen. bei welchem man die echte, eigentliche Struktur erhält; jeder Grad der Entfärbung bringt andere Strukturbilder hervor, so daß Irrtümer in der Beurteilung und Deutung der die Bakterien zusammensetzenden Elemente leicht möglich sind, wie ja auch andere Autoren, z. B. Swellengrebel, zugeben.

Damit will ich jedoch nicht gesagt haben, daß andere Tinktionsmethoden, wie z. B. das gewöhnliche Hämatoxylin, unbrauchbare Bilder darbieten. Dies widerlegen schon z. B. die Resultate von Bütschli. Die Mehrzahl der üblichen Methoden liefert gute Bilder, so auch besonders die vitale Tinktion, von welcher dies schon Ernst und **Růžička** hervorgehoben haben.

Gefärbt wurde mit der Giemsa-Lösung durchschnittlich ca. $^3/_4$ bis 1 Stunde, hierauf solange mit Alkohol entfärbt, als noch blaue Farbstoffwolken dem Präparate entstiegen.

Beginn der Entwickelung.

In den ersten Entwickelungsstadien (nach Auskeimung aus den Sporen) zeigen die Individuen des Bac. nitri ein homogenes Aussehen. Das ganze Individuum färbt sich nach der Fixierung mit Sublimat sehr intensiv und gleichmäßig. Die homogene Färbung erklärt Guilliermond (21a) entweder durch die Dichte des Cytoplasmas oder durch einen eigentümlichen Zustand der Membran, oder endlich durch eine innige Vermischung des Cytoplasmas mit dem Chromatin. Richtiger erscheint mir aber die Erklärung, daß im Beginn der Entwickelung, die das Individuum zusammensetzenden Chromatinplastinsubstanzen noch nicht derart differenziert sind, wie in den späteren Stadien.

Auf dem gewöhnlichen Agar kann man in den ersten Entwickelungsphasen eine intensive Vermehrung des Bac. nitri durch Teilung konstatieren. Die Teilungsweise entspricht an meinen fixierten Präparaten gänzlich der Beschreibung der Teilung, welche Růžička (51b) nach Beobachtungen in vivo an Kokken und Bacillen mitgeteilt hat.

Man kann nämlich bei dem Individuum, welches sich zur Teilung anschickt, ein exzentrisches, laterales, ziemlich großes, stark gefärbtes, gewöhnlich der Membran äußerst innig anliegendes, ungefähr in der Mitte des Individuums befindliches Körnchen beobachten, das zu einem gegenüberliegenden Punkt der Membran einen, die Lage der späteren transversalen Querwand andeutenden Ausläufer sendet (Fig. 1a). Es kann manchmal vorkommen, daß sich das Körnchen auf der zum Beobachter gewendeten Seite des Bacillus befindet; dann scheint das Körnchen eine zentrale Lage einzunehmen (Fig. 2b). Manchmal sieht man 2 vis-à-vis der Membran anliegende und durch einen dünnen Faden miteinander verbundene Körnchen (Fig. 1b, 3). Der Ausläufer vom Körnchen zur Membran, oder die Querspreite, welche die zwei der Membran anliegenden Körnchen verbindet, braucht nicht senkrecht zur longitudinalen Achse des Individuums zu stehen, sondern kann auch eine schiefe Lage einnehmen, wie aus der Fig. 1b, 3 ersichtlich ist, und wie auch Guilliermond (21a) angibt und abbildet. Andere Individuen bieten (Fig. 1c) das Bild der in der Mitte des Individuums durchgeführten Teilung. An den Teilungsenden erscheinen da die Membranen ziemlich dick und stark gefärbt.

Bei einigen Individuen, deren Teilung bereits vollendet und die Tochterindividuen an den anliegenden Polen schon abgerundet waren, konnte ich die Reste der retrahierten querwandbildenden Masse in Form von zwei großen, in den gegenüberliegenden Ecken der zugekehrten Bacillenenden liegenden Körnern sehen (Fig. 1a).

Die Fig. 5, 13 links kann man vielleicht als beginnende Teilung, vielleicht eine Abschnürung der Sporenanlage, deuten; die Gruppen der großen Körner scheinen darauf hinzuweisen.

Des weiteren kann man oft beobachten, daß die erste Teilung des Individuums noch nicht ganz vollendet zu sein braucht (wie aus Fig. 4 ersichtlich) und die Tochterindividuen schon den Anlauf zur weiteren Teilung nehmen, wie es auch Guilliermond (21a, Taf. II, Fig. 14) beschreibt.

* * *

Das homogene Aussehen und die diffuse Färbung der jüngsten Individuen des Bac. nitri bleiben nur eine relativ kurze Zeit bestehen; der Inhalt der Bacillen differenziert sich in späteren Entwickelungsstadien in komplizierte Strukturen, welche den von Bütschli, Růžička und anderen (Ottolenghi, Guilliermond, Swellengrebel) beschriebenen gleichen.

Wir sehen dann verschiedenste Strukturen auftreten, unter denen netzig-alveoläre dominieren. Unter anderen findet man auch Individuen mit typisch ausgebildeter Chromatinspirale (Fig. 7, 8 u. 9), deren Windungen an dem der Membran anliegenden Scheitel mit stark violett (nach Giemsa) tingierten Chromatingranula versehen sind. (Bei kürzerer

Färbungsdauer nach Giemsa [25 Min. bis 1/2 Std.] erscheinen diese Körnchen anstatt in violetter in der für das Chromatin typischen roten Farbe tingiert.) Die oben erwähnte spiralige Struktur geht, wie Fig. 10 zeigt, in eine schöne Netzstruktur mit einer Menge von Chromatingranula verschiedener Dimensionen und verschiedener Tiefe der Färbung über. Die Verbindungsfäden der Granula erscheinen schwächer gefärbt und man vermag das von ihnen gebildete Netzwerk durch verschiedene Einstellung der mikrometrischen Schraube in tieferen Etagen zu verfolgen, so daß von einer alveolären Struktur, wie sie als erster Bütschli (9) beschrieben hat, gesprochen werden kann (Fig. 11, 12, 13, 14, 15, 16). Endlich findet man Individuen (Fig. 17) mit rundmaschiger Alveolarstruktur, welche den Eindruck einer Vakuolisation hervorruft und kaum normal sein dürfte. Sie kommt auch verhältnismäßig selten vor. Kurz, man kann den Schluß ziehen, daß beim Bac. nitri die alveoläre Struktur von einem bestimmten Entwickelungsstadium an vorherrschend ist.

An nach Cesaris-Demel vital gefärbten Präparaten kam ich zu denselben Resultaten (Fig. 16).

Aehnlich wie Trambusti et Galeotti (57) an ihren mit Safranin tingierten Objekten, fand auch Trambustis Schüler Amato (1) an seinen vital mit Brillantkresylblau tingierten Präparaten in den Bacillen eine Menge peripher gelagerter Körnchen, welche Trambusti et Galeotti sogar in ringförmige Bildungen zusammentreten lassen, die sich in sporenartige Bildungen kondensieren sollen, aus denen später neue Individuen entstehen.

Ich konnte mit Brillantkresylblau eine Menge von Körnchen darstellen, die peripherisch gelagert waren; doch erschienen dieselben stets miteinander durch Fäden verbunden und saßen dabei in den Knotenpunkten eines zwar ungefärbten (oder sehr schwach gefärbten), jedoch sehr deutlichen Netzwerkes.

Da Amato auch im Innern der Individuen außer der von ihm ausdrücklich erwähnten, peripher gelagerten Granula eine größere Zahl von den ganzen Körper ausfüllenden Körnern abbildet, so schließe ich, daß er das Netz, in dessen Knotenpunkten diese Granula sitzen, und besonders bei zweckmäßiger Benutzung der Mikrometerschraube ganz unzweifelhaft nachgewiesen werden kann, übersehen hat.

Zweifelsohne liegt die Ursache in einer unrichtigen Benutzung des Abbeschen Kondensors, worauf bei einer analogen Gelegenheit schon Bütschli aufmerksam gemacht hat. Es ist unbedingt nötig, bei der Beobachtung dieser feinen Objekte den Kondensor tieferzustellen.

Außer der netzig-alveolären Strukturen kann man beim Bac. nitri zwar auch noch aus isolierten Granulis bestehende Strukturen beobachten. Im Inhalte älterer Individuen erscheinen nämlich an fixierten, nach Giemsa tingierten Präparaten schön sattrote, stark lichtbrechende, völlig isolierte Körnchen.

Das Aussehen und die Anordnung derselben sieht man beispielsweise auf der Fig. 27 und anderen, welche einen Faden des Bac. nitri einer 7 Tage alten Zuckeragarkultur vorstellt. Ein Individuum des Fadens ist nach Giemsa diffus violett gefärbt, mit 5 satt-violett tingierten Granulis und einem zur Längsachse schief gestellten ovalen Körper, der schwach rosafarbig ist und in dessen Zentrum ein leuchtend rotes, stark lichtbrechendes Körperchen liegt. Die übrigen Individuen des Fadens sind ungefärbt und enthalten 1—7 dieser sattrot gefärbten

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Körperchen. Auf der Fig. 28, aus einer 18 Stunden alten Kartoffelkultur sieht man einen Faden ohne Gliederung, welcher mit vakuolenähnlichen Bildungen entweder mit oder ohne rotes Körperchen vollgestopft sind. Aehnlichen Verhältnissen begegnet man in Fig. 29, 30.

Ein einer 18-stündigen Endo-Agarkultur entnommenes Präparat, das 12 Tage der Wirkung 10-proz. KOH unterzogen, dann mit durch HCl angesäuertem Wasser abgespült und nach Heidenhain gefärbt wurde, enthielt massenhaft Individuen mit schön metachromatisch rot gefärbten Körperchen (Fig. 31).

Wenn wir uns in der Literatur umsehen, so bemerken wir, daß diese Gebilde genau den Bungeschen Körperchen (die peripheren, vakuolenförmigen Ektogranula nach Růžička) und den Krompecherschen Körperchen (die inneren, roten Entogranula nach Růžička) entsprechen; das beweist auch das positive Resultat des von Preisz (49) für diese Körper angegebenen Färbungsverfahrens (Fig. 30).

Einer 2 Tage alten Zuckergelatinekultur des Bac. nitri entnahm ich zwei Präparate, deren eines, nach Giemsa tingiert, lauter Ekto- und Entogranula zum Vorschein brachte. Das andere Präparat wurde nach der Methode Sjöbrings (55) gefärbt (Fixation mittels HNO_3, Tinktion mit Karbolmethylenblau, Entfärbung mit HNO_3 — Einbettung in Glyzerin); dieses zweite Präparat bot vollkommen das von Sjöbring (55) beschriebene Bild dar (Fig. 32); in dem bis auf die Membran ungefärbten Individuum findet man ein vakuolenähnliches Gebilde — „Sjöbrings Bakterienkern“, und im Inneren an der Peripherie dieser Vakuole blaugefärbte Granula, im Zentrum ein größeres, schwächer bläulich tingiertes Körperchen mit noch einem dunkelblauen Granulum.

Auf Grund des Umstandes, daß die nach Giemsa tingierten Präparate einmal das Bild der Ekto- und Entogranula darboten, ein anderes Mal, nach Sjöbring tingiert, die Kernbilder Sjöbrings, kann mit Sicherheit geschlossen werden, daß die Bilder des letzteren Forschers den Ento- und Ektogranulis entsprechen, wodurch der Ansicht desselben, daß es sich um Kerne handelt, völlig der Boden entzogen wird. Nebenbei sei hier bemerkt, daß die Ansicht Gotschlichs (19), nach welcher Sjöbring die im Inneren des vakuolenähnlichen Körpers befindlichen Granula, welche den Körperchen Krompechers (Entogranulis) entsprechen, für Kerne hielt, unrichtig ist.

Als Ento- und Ektogranula müssen unzweifelhaft auch die vermeintlichen kernigen und kernlosen „Sporen“ Ilkewicz (27), sowie einige Bilder Löwits (33) (seine Fig. 8 des Bac. anthracis) und Ziemans (63) (Fig. 15 Spirillum undula majus) aufgefaßt werden. Jedenfalls hat auch Ottolenghi (45) die Ento- und Ektogranula des Bac. anthracis gesehen, wie aus seiner Schilderung (p. 549) ersichtlich ist.

Völlig identisch sind mit den Bungeschen Körpern (Ektogranulis) die Kerne von Nakanishi (43), vielleicht auch manche der von Schottelius (53) und Klett (30) beobachteten Gebilde. Dem Körperchen Krompechers (Entogranulum) entspricht weiterhin der Kern von Preisz (49) und gewiß (wenigstens zum Teil) auch der Kern von Meyer (39) und Grimme (20).

Vom Ektogranulum bewies Preisz, daß es kein Kern ist, wodurch die Ansichten eines Teils der zuletzt genannten Autoren zu Falle gebracht wurden, daß weiterhin auch das Entogranulum kein mit einem Kerne vergleichbares Gebilde ist, geht aus dem Umstande hervor, daß es in jungen Individuen, die sich, wie oben geschildert wurde, gerade rege

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

teilen, nicht enthalten ist, sondern erst später entsteht und in die Spore als solches nicht übergeht.

Sporulation.

Zu den interessantesten Etappen im Entwickelungszyklus des Bac. nitri gehört seine Sporulation. Die Sporulationsprozesse werden von großen strukturellen und tinktoriellen, und wie **Růžička** gezeigt hat, auch chemischen Veränderungen begleitet.

Vor der Sporulation findet man in einem Teile der zur Sporulation sich anschickenden Individuen komplizierte netzig-alveoläre Strukturen, die ich im vorhergehenden Abschnitte geschildert habe.

Als 1. Stadium der Sporulation kann man die Differenzierung des fertilen Pols (der zukünftigen Spore) vom übrigen Individuum auffassen, die sich durch Kondensation einer Chromatinmasse manifestiert.

Die Ausbildung eines den fertilen Pol von dem übrigen Individuum abtrennenden Diaphragmas in der Weise, wie es Preisz (49) beim Bac. anthracis beschrieb, sah ich als regelmäßig vorkommende Erscheinung nicht. Vielleicht deutet die Teilung der Chromatingranula auf der Fig. 5 die Abschnürung des fertilen Pols und beginnende Kondensation der sporogenen Masse an. In einigen Fällen konnte ich die Beobachtung machen, daß der Sporenbildung die Bildung einer Querwand im Mutterindividuum vorangeht; zu einer wirklichen Teilung braucht es nicht zu kommen (Fig. 25), wonach sich im Tochterindividuum das Chromatin in Form eines granulierten Netzes zu kondensieren anfängt (Fig. 34), oder bei beiden Individuen (Fig. 21, 24c, 25) vor sich gehen, doch immer geschieht sie an den entgegengesetzten, von der Scheidewand abgewendeten Polen (Fig. 25).

Ob es sich in diesem Falle um einen Vorgang handelt, der dem von Schaudinn (52a) beim Bac. Bütschli, wo die Scheidewandbildung einen als rudimentären Sexualvorgang gedeuteten Prozeß einleitet, beschriebenen analog wäre, konnte ich nicht feststellen. Indes will es mir scheinen, daß eine einfachere Deutung möglich ist, indem man annimmt, daß die Scheidewandbildung den Zweck hat, einesteils die Kondensation des Chromatins zu einem der Pole zu erleichtern, anderenteils zu verhindern, daß bei der Sporenbildung ein allzugroßer Teil der Bakterie abstirbt.

Die Chromatinkondensation geschieht aber, wie ich beim Bac. nitri verfolgen konnte, nicht schematisch, auf eine einzige Weise. Ich kann zweierlei Arten dieser Kondensation und infolgedessen auch der Sporenbildung unterscheiden.

Bei der ersten Art sehen wir Individuen (Fig. 8b, c, d), in welchen der fertile Pol schon deutlich vom übrigen Individuum abgetrennt ist; es gibt sich erstens kund durch eine Anschwellung des Bakteriums, welche aber anfangs vielleicht nur scheinbar ist, erklärbar vielleicht durch eine auf den optischen Eigenschaften der sporogenen Masse, welche eine andere Lichtbrechung zeigt, und ihrer abweichenden Färbbarkeit beruhende Täuschung. Die übrige Partie des Individuums ist nämlich nach Giemsa schwach violett diffus tingiert, gewöhnlich mit dunkler gefärbten Granulis. Manchmal sind in dieser Partie des Bakteriums keine Granula anwesend (Fig. 8b, 37e). Der fertile Pol ist regelmäßig ungefärbt[1], gekennzeichnet durch einen matten Glanz und eine Netzstruktur, in deren Knoten größere, intensiv violett gefärbte Chromatingranula sitzen, versehen (Fig. 37c, d, e, f).

---

[1] Ausnahmsweise kann man eine schwach diffus rosige Färbung beobachten (Fig. 37e).

In der Fig. 37e sehen wir schon deutlich, daß der fertile Pole anschwillt; das granulierte Netzwerk enthält Granula von verschiedenen Dimensionen; an der Peripherie sind sie klein bis mittelgroß, in der Mitte aber liegt ein großes Korn.

Die Bilder, welche bei der Sporulation des Bac. nitri zur Beobachtung gelangen, lassen sich am natürlichsten folgendermaßen ordnen:

Anstatt des bisher beobachteten Bildes von Individuen, welche einen mit Netzstruktur versehenen fertilen Pol besitzen, treten Individuen in Sicht, welche am Pole mit einem kugeligen, diffus violett färbbaren Gebilde — der Sporenanlage — versehen sind. Wie sich der mit Netzstruktur versehene fertile Pol des Bakteriums in diese Sporenanlage umwandelt, kann man nach einer Reihe von Uebergangsbildern vermuten. Es scheint, daß die Granula der ursprünglichen Netzstruktur ihre scharfe Begrenzung einbüßen, zerfließen und zu einer einheitlichen, diffus färbbaren Sporenanlage verschmelzen.

Die Sporenanlage pflegt in einem gewissen Zeitpunkt ihrer Entwickelung mit dem übrigen Inhalte des Individuums durch ein feines Netzwerk in Verbindung zu stehen, wie aus den Fig. 18, 19, 20, 21, 23, 24 ersehen werden kann, ein Umstand, der deutlich auf ihre Entstehung hinweist. In der Sporenanlage kommt es dann zu jenen morphochemischen Prozessen, die Růžička bei der Sporulation des Bac. anthracis verfolgt hat. Die Sporenanlage verliert mehr und mehr ihre diffuse Färbung, erwirbt aber dafür einen eigentümlichen und steigenden Glanz; bevor die Färbbarkeit der Sporenanlage total verschwindet, kann man in ihr als Rest der färbbaren Masse ein oft zentral gelegenes Granulum beobachten[1]) (Fig. 35a, b, 36). Dieser färbbare Rest braucht aber nicht im Zentrum zu liegen, sondern findet sich manchmal auch dicht am Pole (Fig. 38), doch ist dies seltener.

Endlich verschwindet (Fig. 39) auch dieser färbbare Rest der Sporenanlage, die ursprünglich gänzlich färbbar war, und wir bekommen die sogenannte reife Spore, welche sich mit basischen Farbstoffen substantiv nicht mehr färbt (Fig. 40) und deren Substanz mikrochemisch dem Plastin entspricht (Růžička).

Das langsame allmähliche Zurücktreten der Färbbarkeit von der Peripherie nach dem Zentrum der Sporenanlage läßt sich nicht erklären durch die mancherseits gemachte Annahme, daß bei der Reifung der Spore die Membran derselben ihren Charakter ändert; in diesem Falle müßte ja die Färbbarkeit unvermittelt jäh in der ganzen Spore aufhören und dürfte sich nicht nach dem Mittelpunkt der Anlage zurückziehen. Meines Erachtens ist die von Růžička gegebene Erklärung die nächstliegende, nämlich durch allmähliche chemische Umwandlung.

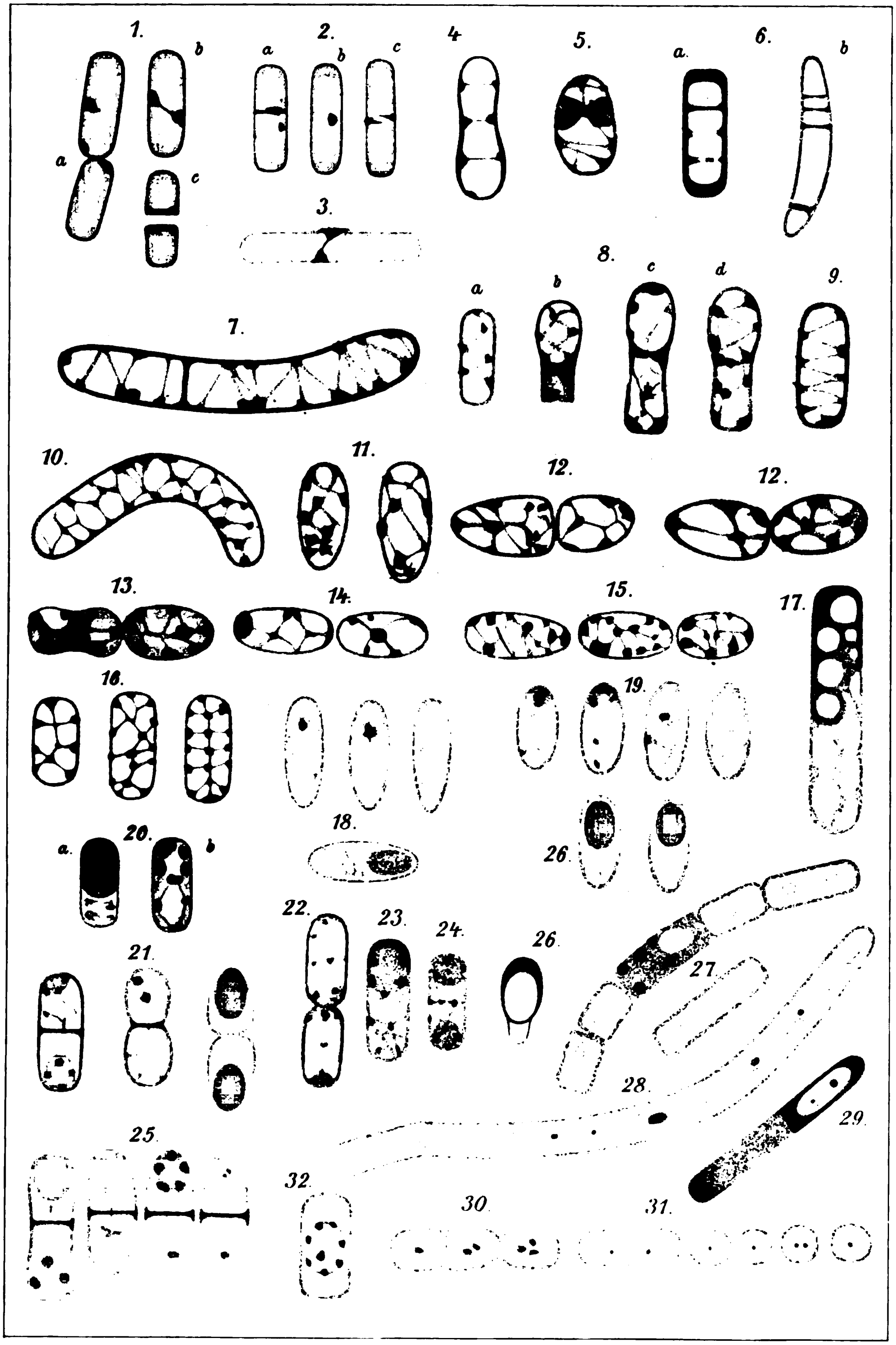
Diejenigen Individuen, welche eine solche reife Spore enthalten, sind in der Zeit ihrer Ausbildung anfangs stark färbbar (diffus oder zugleich auch mit stark gefärbten Strukturen), später büßen sie ihre Färbbarkeit ein und erscheinen zuletzt nur als matte Schatten.

An einer 2 Tage alten Gelatinekultur entnommenen und vital mit Brillantkresylblau tingierten Präparaten beobachtete ich genau die gleichen auf eine Konfluenz der Chromatingranula in der Anlage der zukünftigen Spore hinweisenden Bilder (Fig. 20a, b).

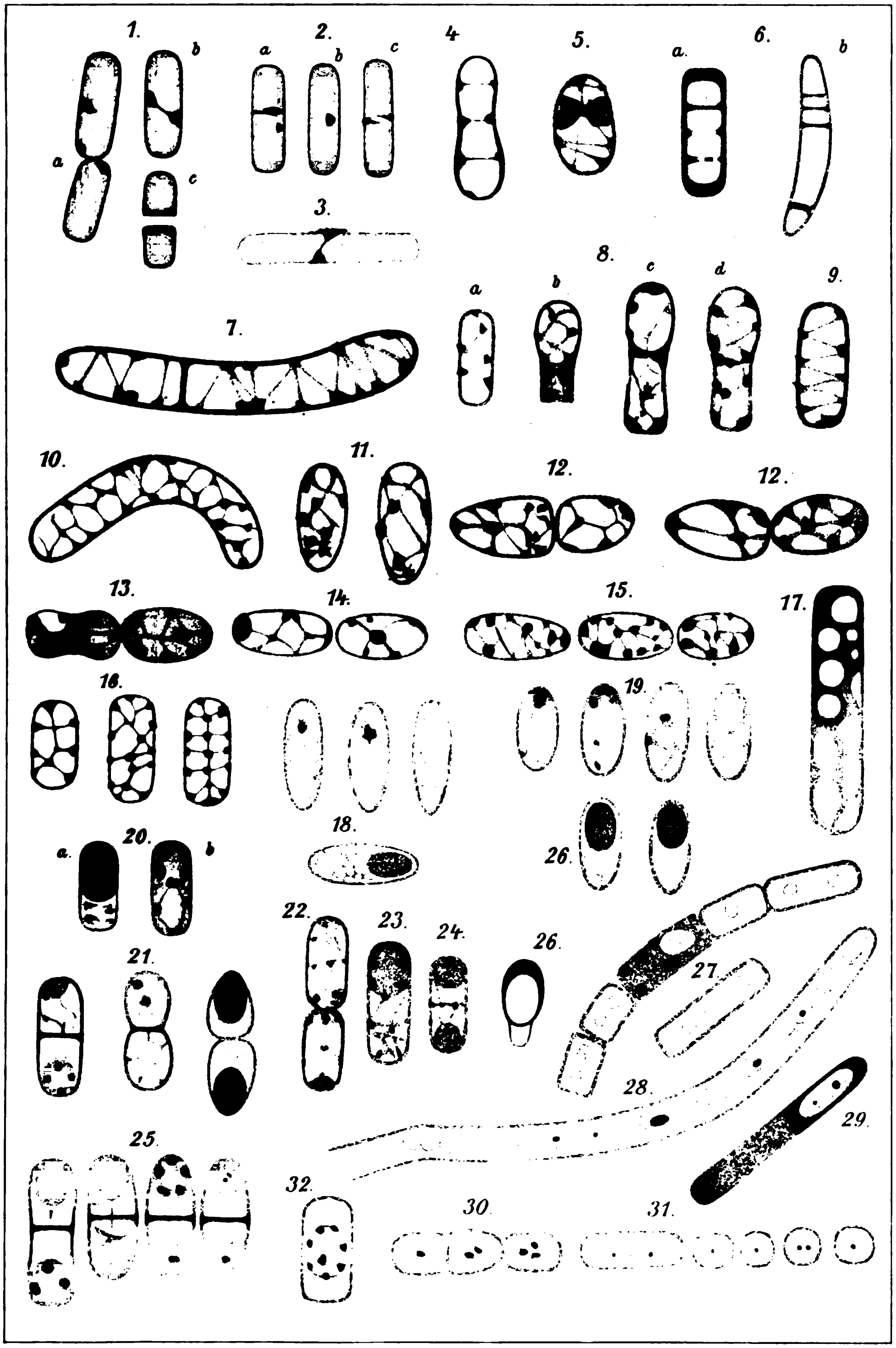
---

1) Bereits Zettnow (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. 1899) erwähnt denselben in jungen, noch nicht völlig reifen Sporen von Astasia asterospora.

Centralblatt f. Bakteriologie Abt. I. Orig. Bd. 51. *Ambroz, Bacillus nitri sp. u. Taf. I.*


1.
a
b
c
2.
a
b
c
4
5.
6.
a.
b
3.
8.
a
b
c
d
9.
7.
10.
11.
12.
12.
13.
14.
15.
17.
16.
19.
18.
20.
a.
b
26.
22.
23.
24.
26.
21.
27.
28.
29.
25.
32.
30.
31.

Ambroz gez. Verlag von Gustav Fischer in Jena Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.


1.
a
b
c
2.
a
b
c
3.
4
5.
6.
a.
b
7.
8.
a
b
c
d
9.
10.
11.
12.
12.
13.
14.
15.
17.
16.
19.
18.
20.
a.
b
26.
21.
22.
23.
24.
26.
27.
28.
29.
25.
32.
30.
31.

Ambroz gez. Verlag von **Gustav** Fischer in Jena Lith. Anst. v. Johannes Arndt, Jena.

Die zweite Art der Chromatinkondensation bei der Sporenbildung verläuft etwa folgendermaßen:

Die Individuen, bei denen sie zutage tritt, unterscheiden sich in gewisser Beziehung von denjenigen, bei welchen die erste Art der Chromatinkondensation vorkommt. Sie sind nämlich mit einem ungewöhnlich feinen, dichten und schwachblau (nach Giemsa) gefärbten Netzwerke versehen. In diesem Netzwerke tritt am fertilen Pole ein ein wenig stärker als das den Körper ausfüllende Netz blaugefärbtes Fleckchen ohne bestimmte Begrenzung auf, das aber bald größere Dimensionen annimmt, und als ein unregelmäßig konturierter, bläulicher Fleck erscheint, dessen Form von der Anordnung des anwesenden Strukturnetzes bestimmt wird. Es scheint, als ob das Chromatin des letzteren an einer Stelle zusammenfließe und den gebildeten Fleck durch ständigen Zufluß vergrößere. Der Fleck wird auch allmählich dunkler und erreicht sphärische Gestalt (Fig. 18a, b, c, d). Dieses Körperchen ist nichts anderes, als die Sporenanlage.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß die Kondensation des Chromatins in die Sporenanlage auch noch anders verlaufen könne. So kann man Individuen beobachten, bei welchen in dem, aus jener feinen Netzstruktur entstandenen diffusen Fleck ein oder mehrere sich dunkel färbende, unscharf begrenzte Granula enthalten sind (Fig. 19a, b, c, d, 21 u. a.). Es ist aber möglich, daß auch diese Bilder zu irgendeinem der oben angeführten Typen der Chromatinkondensation gehören. Diese Frage ließe sich durch direkte Beobachtung der Sporulation mit Hilfe der vitalen Färbung entscheiden, was bei Anwendung des Brillantkresylblaues ausgeführt werden könnte, wie ich mich gelegentlich überzeugt habe. Ich verfolgte aber die Sache nicht weiter, da ich diesen Details in betreff des ganzen Problems kein großes Gewicht zuschreibe.

Die Umwandlung der Sporenanlage in die reife Spore geschieht auch bei dieser zweiten Art der Chromatinkondensation genau so, wie ich es bei der ersten Art beschrieben habe. Die reifende Spore büßt ihr Färbungsvermögen ein und erwirbt den für die Spore typischen Glanz.

Vergleiche ich nunmehr meine Beobachtungen mit den Angaben anderer Autoren, so muß ich sagen, daß sie im wesentlichen mit ihnen in Uebereinstimmung gebracht werden können.

Die Sporenentstehung wurde von verschiedenen Autoren verschieden erfaßt und es unterscheiden sich die Ansichten besonders nach zwei Richtungen hin. Nach der einen entsteht die Spore durch Anhäufung von Körnchen, deren Substanz von derjenigen des Bakteriums abweicht und sich der Sporensubstanz nähert, nach der anderen entsteht sie als ein Korn, welches sich durch Wachstum vergrößert und zugleich alle Eigenschaften der Spore annimmt.

Die erste Richtung stammt von de Bary und Zopf, die andere von Prażmowski.

Die erste Richtung, d. h. die Sporenbildung nach dem Typus de Bary (4) und Zopf (64), hat schon Bunge (7) bestätigt gefunden, nach welchem die Spore beim Bac. anthracis aus plasmatischen Bakterienkörnern entsteht, welche sich durch Konfluenz und appositionelles Wachstum in die Spore verwandeln.

Burchard (8) und Migula (40) kamen zu derselben Ansicht bezüglich der Mehrzahl der sporogenen Bakterien. Wahrlich (61) beobachtete bei der Sporulation eine starke Anhäufung von Chromatinkörnchen. Aehnlich schildert die Sporenbildung Schaudinn (52a) bei

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Bac. Bütschli, mit welchem auch die Růžičkas Beschreibung der Sporenbildung bei Bac. anthracis übereinstimmt. Nach diesen Autoren häufen sich die Chromatingranula, welche im ganzen Bakterienkörper zerstreut waren und seine inneren plasmatischen Strukturen bildeten, größtenteils am fertilen Pol an und verschmelzen zur Sporenanlage, welche dann mit der Reifung ihre Färbbarkeit einbüßt. Die Angaben Schaudinns und Růžičkas unterscheiden sich nur dadurch, daß sich beim Bac. Bütschli 2 Sporen nach vorausgegangener Plasmoautogamie, welche die Ausbildung eines wellenförmigen, aus Chromatingranulis bestehenden Fadens bedingt, der beide Sporenanlagen verbindet, herausbilden, wogegen beim Bac. anthracis kein geschlechtlicher Prozeß vorkommt und nur eine Spore entsteht.

Nach Amato (1) tragen die zerstreuten Bakteriengranula ebenfalls zur Sporenbildung bei, indem sie sich bei der Sporulation zu den Polen zurückziehen, an Lichtbrechung gewinnen und sich schwer färben. Auch beobachtete Amato in den ersten Phasen der Sporenbildung die Entstehung eines kleinen „Zentralkörperchens“, das er für einen echten Zellkern hält. Dieses verschwindet in der reifen Spore, vielleicht — wie Amato vermutet — deshalb, weil die Sporenmembran durch Verdickung für Farbstoffe impermeabel geworden ist, erscheint aber wieder in den ersten Entwickelungsstadien des jungen Bacillus, um den Kern der jungen Bacillen zu bilden. Aus diesem sollen dann durch Teilung oder Zerfall jene viele, zerstreut im erwachsenen Bacillus enthaltenen Granula entstehen.

Den Einwand betreffs des Verlustes des Färbungsvermögens habe ich bereits oben besprochen.

Nach dem von Prażmowski (48) beschriebenen Typus geschieht die Sporenbildung nach der Schilderung von Brefeld (6) bei Bac. subtilis in nachstehender Weise: Im Bakterienkörper erscheint ein dunkler Schatten, welcher in einer Weise wächst, welche den Eindruck erweckt, als ob sich die Bakterienmasse an einer Stelle anhäufen würde. Koch (31) teilt mit, daß bei Bac. carottarum, der nie in seinem Inhalte Körnchen zeigt, auf einmal die Spore als ein das Licht stärker brechender Fleck erscheint. Auch Peters (46) erblickt gleich am Beginne der Sporulation die Sporenanlage in der Größe der zukünftigen Spore, doch mit geringerem Lichtbrechungsvermögen. Nach Klein (29) entsteht bei den Sumpfbakterien simultan der Sporenkörper, der größere Dimensionen hat, als die künftige reife Spore, und sich bei der Reifung erst zur Größe der typischen Spore kontrahiert. Nach Frenzel (18b) soll ebenfalls beim grünen Kaulquappenbacillus die ganze Spore auf einmal entstehen. A. Fischer (16) beobachtete bei älteren Individuen des Bac. anthracis, daß die Sporenanlage durch Kontraktion des Inhaltes, der anfangs noch den Bau des vegetativen Stäbchens zeigt, entsteht. Dieselbe kontrahiert und verdichtet sich später. Nach Meyer (39) differenziert sich bei Bac. asterosporus zuerst der fertile Pol dadurch, daß er sich zu einer Sporenvakuole aufhellt, indem er die dort gegenwärtig gewesenen Granula einbüßt (wie oder wohin sie verschwinden, gibt er nicht an ...), darauf erscheint die Sporenanlage im Zentrum des Stäbchens, wo sie sich immer mehr aufhellt und in der definitiven Größe der typischen Spore durch eine feine Grenze vom übrigen Individuum abtrennt. Darauf umgibt sie sich mit einer Membran. Wagner (59), welcher in Bacillenketten liegende Sporen, die sich von den Bacillen selbst nur durch ihre Unfärbbarkeit unterschieden, beobachtete, glaubt, die Sporen seien einfach Bakterienzellen, die sich zum Schutze mit einer starken Membran versahen. Diese Ansicht ist jedoch irrtümlich und läßt sich vielleicht dadurch begreifen, daß Wagner bei den von ihm studierten Objekten (Bac. typhi und coli) sporoide Körper sah, welche nach Preisz selbst ganze Zellen einnehmen können.

Nach Nakanishi (43) ist die Spore als eine intercelluläre Einkapselung des Kernes und des kondensierten perinukleären Cytoplasmas der Bakterie aufzufassen. Es kann heute kein Zweifel mehr bestehen, daß Nakanishi das Körperchen Bunges für die Spore hielt. Preisz (49) unterscheidet bei Bac. anthracis drei Stadien in der Evolution der Spore. Im I. Stadium entsteht (vielleicht durch eine Modifikation der äußersten protoplasmatischen Schicht) auf dem fertilen Pole die chromatische Substanz in Form einer Kappe, in deren Nähe „der Kern“ erscheint. Der letztere wird durch ein Diaphragma, das aus den seitlichen Auswüchsen der chromatischen Kappe entsteht, zerteilt und zur Hälfte samt der chromatischen Kappe vom übrigen Bakterienkörper abgetrennt, worauf die letztere Konturen und Sporenform erwirbt. In der II. Phase wächst diese Sporenanlage bis zum Maximum, grenzt sich gegenüber dem sterilen Pol scharf ab und trennt sich von den Wänden des Individuums. Die Sporenanlage färbt sich intensiv. Das ganze Gebilde — „Vorspore“ genannt — gleitet sodann dem Bacillenzentrum näher. Im III. Stadium verschwindet der obenerwähnte „Kern“ (vielleicht durch Auflösung in der „Vorspore“). An Stelle desselben erscheint aber ein längliches Ovalgebilde in derselben, welches zur definitiven Spore wird; um dasselbe herum entsteht ein ziemlich breiter Hof, aus dem durch Schrumpfung die Sporenkapsel entsteht.

Nach Mühlschlegel (42 a, b) erscheint am fertilen Pole ein grauer Fleck, der annähernd die Größe der Spore besitzt und in welchem alle in seinem Bereiche befindlichen Körnchen, welche sich vor der Sporulation reichlich im Protoplast finden, verschwinden, wie wenn er dieselben auflösen würde (42 b p. 67). Die Sporenbildung geschieht durch Verbindung der Körnchen mit dem interstitiellen Plasma, was durch einen hypothetischen Kern hervorgerufen werden soll. Die Körnchen können aber auch unsichtbar sein, indem sie äußerst fein im Protoplast zerteilt werden. Das Wachstum der Spore geschieht von innen nach außen. Zur Ausbildung der Kapsel dienen die nächstliegenden Körnchen. Die Kapsel besteht aus dem Endo- und Ektosporium. Die Eigenschaft der Sporen, schwierig Farbstoff aufzunehmen, ist hauptsächlich der Substanz des Sporenkernes dieses glänzenden Sporenkörpers und dann von den Eigenschaften der Kapsel abzuleiten.

Gegen diese letztere Ansicht, welcher man auch bei anderen Autoren (z. B. Swellengrebel, Preisz, Guilliermond, Schaudinn [Bac. sporonema] u. a.) begegnet, hat sich schon Fedorowitsch (14) ausgesprochen. Mit Recht hat er eingewendet, daß in dem Stadium, wo sich in der Spore das zentrale chromatische Körnchen färbt, schon die ganze periphere Partie der Spore, d. h. die größte Partie des Sporendurchmessers, der Färbung nicht zugänglich ist, daß infolgedessen der Schwund der Fähigkeit der Tinktion nicht mit dem Zustand der Sporenmembran zusammenhängt. Einen anderen Einwand habe ich bereits oben geäußert. Außerdem kann man noch einwenden, daß es a priori ausgeschlossen ist, daß die Sporenmembran zurzeit überhaupt undurchdringlich sei für Wasserlösungen, denn dann könnte sie überhaupt nie auskeimen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ueberdies hat bereits **Růžička** gezeigt, daß die Spore bei der Reifung die mikrochemischen Eigenschaften des Chromatins einbüßt und diejenigen des Plastins erwirbt, wodurch sich die Färbungsunterschiede ohne Zwang erklären lassen.

An dieser Stelle scheint es mir passend, zu erwähnen, daß Mühlschlegel die Entstehung der Sporenanlage durch Konfluenz der Chromatingranula für undenkbar hält. So sagt er l. c. p. 68: „die Ansicht, daß bei diesem Vorgang ohne weiteres ein „Zusammenfließen der größeren Kügelchen statthabe, kann ich nicht teilen, weil es zu unwahrscheinlich ist, daß die verdichteten Plasmaballen — als solche sind die Kügelchen aufzufassen — die sehr beständig sind und sich weder durch Kochen noch durch eine halbjährige Austrocknung verändern, auf einmal einfach die physikalischen Eigenschaften von flüssigen Tröpfchen annehmen."

Daß sich diese Körnchen weder durch Kochen noch durch Austrocknung verändern, ist begreiflich, da sie koagulieren, und beweist dieser Umstand gar nichts gegen die Annahme, daß sie ihre Konsistenz im Laufe der Lebensprozesse verändern könnten. Im Gegenteil, diese Veränderung ist überhaupt nicht als eine Voraussetzung aufzufassen, sondern man muß sie für gesichert halten. Denn, wie ich mitgeteilt habe, kann man aus den Präparaten ersehen, daß die Chromatinkörnchen, indem sie in die Sporenanlage zusammentreten, ihre scharfe Begrenzung einbüßen, bis sie gänzlich morphologisch verschwinden. Das ist nur unter der Voraussetzung möglich, daß sie sich aufgelöst haben. Uebrigens müssen die Chromatinkörnchen auch schon, bevor sie zu schmelzen anfangen, von einer nicht besonders zähen Konsistenz sein, weil, wie **Růžička** zeigte, das Chromatinmolekül gegenüber dem der Grundsubstanz (Plastin) erheblich kleiner ist und die Chromatinkörner im Laufe der Lebensprozesse aus der Plastinsubstanz (bei der Sporenkeimung) entstehen. Sie können also nicht,. wie Mühlschlegel annimmt, im Gegensatz zur Sporengrundsubstanz, verdichtete Gebilde sein, sondern das umgekehrte Verhältnis ist wahrscheinlicher. Es versteht sich aber von selbst, daß der Eintritt des Zusammenfließens solcher Gebilde eine chemische Veränderung ihrer peripheren Partieen voraussetzt.

Uebrigens gibt Mühlschlegel selbst zu, daß die Granula in der Sporenanlage verschwinden (ibid. p. 68): „Dieses Verschwinden geht zwar allmählich, aber doch in ziemlich kurzer Zeit vor sich, und zwar so, wie wenn die Kügelchen aufgelöst würden.

Er setzt also hier selbst voraus, daß sie nicht beständig sind und daß sie gewisse Eigenschaften der Flüssigkeiten, nämlich die Fähigkeit sich aufzulösen, annehmen, womit er freilich seine frühere Meinung selbst widerlegt.

Fedorowitsch (14), der bei den Bacillen drei Arten von Körnchen annimmt, beobachtete, daß die Spore durch Wachstum eines von den Körnchen „zweiter Reihe" entsteht, welches ursprünglich 2—3mal kleiner ist als die reife Spore, sich allmählich vergrößert und trübt (was er durch eine chemische Veränderung erklärt), bis es die Größe der reifen Spore erreicht. Die übrigen Körner der zweiten und dritten Reihe beteiligen sich in keiner Weise an diesem Prozesse. Im Resumé seiner Beobachtungen sagt Fedorowitsch: „Der Körper der sporentragenden Bakterien besteht aus einem Häutchen und einem Inhalt, in dessen peripherischen Teilen Körnchen I. Reihe eingeschlossen sind, die, in Körnchen II. und III. Reihe übergehend, zu Sporen verändert werden."

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

An dieser Stelle muß auch Guilliermond (21a) angeführt werden, doch ist sein Standpunkt sehr unklar.

So sagt er zuvörderst: „Lors de la sporulation, on voit se former à l'un des pôles de la cellule, tout près de la cloison transversale un petit granule, visible sur le vivant sous forme d'une vacuole, qui d'abord offre un contour un peu irregulier, puis devient sphèrique" . . . . p. 23 . . . . „le granule se colore" . . . p. 23 . . . „Ce granule grossit, prend une forme ovale, puis s'entoure d'une membrane qui en s'épaississant fûsit, pour s'opposer alors à la pénétration des colorants" . . . p. 24 . . . „les spores ne paraissent donc pas dériver que d'une partie d'entre eux" . . . p. 24 . . . „Dès l'apparition de l'ébauche de la spore, le cytoplasme perd peu à peu ses granules chromatiques" . . . p. 24 . . . führt aber nicht an, wohin sie verschwinden und ob ihr Schwund bei den studierten Objekten doch nicht im Zusammenhange mit der Sporenanlage steht.

Weiter betont er ausdrücklich: „Dans le Bac. Bütschlii la spore nait d'une manière, qui est en apparence assez différent" p. 24.

Dagegen führt er wieder an auf p. 38: „Lors de la sporulation enfin, l'ébauche de la spore se présente sous forme d'un gros granule, résultant vraisemblablement de la condensation d'une partie des granulations chromatiques du cytoplasme."

Es muß nach dem Angeführten geschlossen werden, daß die Ansichten über die Art der Sporenbildung keineswegs einig sind. Da man oft widersprechende Angaben findet, die sich auf ein und dasselbe Objekt beziehen, so wenn z. B. vom Bac. subtilis die erste Art der Sporenbildung nach dem Typus de Bary-Zopf von Burchard und Migula, die zweite dagegen von Prażmowski behauptet, so erscheint es nötig, definitiv zu entscheiden, wie sich eigentlich die Spore ausbildet und ob die angeführten Widersprüche in irgendwelcher Weise ausgeglichen werden könnten.

Wenn ich die Resultate meiner Beobachtungen am Bac. nitri mit den Resultaten der Arbeiten Růžičkas und die aus diesem Vergleiche resultierenden Schlüsse mit den Resultaten anderer Autoren, die sich auf verschiedene Objekte beziehen, vergleiche, gelange ich zu folgendem Resumé:

Der Sporulation geht in der Mehrzahl der Fälle bei Bac. nitri eine Netzstruktur mit zahlreichen Chromatingranulis voraus. Der Beginn der Sporulation wird durch eine Anhäufung der Chromatinmasse am fertilen Pole des Individuums und die Differenzierung dieses Poles vom sterilen Pol markiert, doch ist die letztere beim Bac. nitri nicht so ausgesprochen, wie es Preisz beim Bac. anthracis beschrieben hat.

Die Chromatinanhäufung kann auf zweierlei Weise geschehen: Einerseits durch Verschmelzung größerer Chromatingranula nach dem Typus de Bary-Zopf (wie es auch Bunge, Burchard, Migula, Wahrlich, Schaudinn, Růžička, Amato beschreiben), andererseits durch Zufluß von Chromatin aus dem feinen Strukturnetzwerke zu einem Punkte des letzteren, wodurch ein anfangs unregelmäßiges Gebilde entsteht, das erst später schärfere Konturen und sphärische Gestalt erwirbt — nach dem Typus Prażmowski (Brefeld, Koch, Peters, Klein, Frenzel, Fischer, Meyer, Wagner, Nakanishi, Preisz, Mühlschlegel, Fedorowitsch, Schaudinn, Guilliermond).

Ich möchte hervorheben, daß es mir gelungen ist, die erste morphologische Entstehung der Sporenanlage zu konstatieren, indem ich die Veränderungen in der Netzstruktur des Bakterienkörpers verfolgte, wogegen bisherige Autoren, welche den zweiten Typus der Sporenbildung beobachtet haben, sich auf die Mitteilung beschränken, daß im Bakterienkörper ein kleinerer tingierter Fleck erscheint. Von wo er herkommt und wo er seinen Ursprung nimmt, geben sie, soweit mir bekannt, nicht an. Aus meinen Untersuchungen ergibt sich also, daß die Sporulation des Bac. nitri nach den beiden Typen stattfindet. Ich bin geneigt, die Annahme zu machen, daß die in den Fig. 19, 20, 21, 24 dargestellten Erscheinungen als eine Uebergangsform zwischen beiden Typen aufzufassen sind.

Berücksichtigt man die widersprechenden Angaben, die oft über die Sporulation derselben Bakterien von verschiedenen Autoren gemacht worden sind, so wird man vielleicht nicht fehlgehen, wenn man die Vermutung ausspricht, daß auch bei anderen Bakterien die beiden Typen vorkommen können. Welche Umstände zu dem oder jenem Sporulationstypus führen, vermag ich zurzeit noch nicht zu entscheiden.

Wenn wir die Umwandlung der Sporenanlage in die typische, reife, fertige Spore verfolgen, so bemerken wir an nach Giemsa tingierten Präparaten vor allem große tinktorielle Veränderungen. Der Beginn der Bildung der Sporenanlage wird teils durch die intensiv violette Färbung der sporogenen Granula, teils später durch die diffus violette Färbung der zu einem Klumpen verschmolzenen Chromatinmasse gekennzeichnet. Die violette Färbung macht jedoch später allmählich einer bläulichen Platz, so daß die schon scharf abgegrenzte Sporenanlage blau gefärbt ist, während in ihr entweder mehrere oder später auch nur ein violettes Granulum enthalten ist; schließlich verschwindet auch dieses und die bläuliche Spore verliert dann überhaupt die Fähigkeit, sich unter den Umständen, unter welchen die Sporenanlage noch Farbe annahm, zu färben und erwirbt zugleich jenen für die Sporen typischen Glanz und Lichtbrechung. Vor der Sporenauskeimung erscheint im Innern der Spore das Chromatin in Form eines Körnchens wieder, das sich vergrößert und dadurch verursacht, daß sich die Spore wieder violett zu färben anfängt.

Wie hängen nun diese tinktoriellen Veränderungen mit der Sporenbildung zusammen?

Diese Frage beleuchtete Růžička durch seine Beobachtungen über die mikrochemischen Veränderungen der Spore beim Bac. anthracis, welche in meinen Beobachtungen beim Bac. nitri ihre Bestätigung finden.

Beim Beginn der Sporulation sahen wir, daß im Bacillus hauptsächlich basophile Chromatingranula vorherrschen, wie Tinktionsversuche mit neutralen Farbgemischen (z. B. aus Narcein und Fuchsin) ergeben. Aus den Farbgemischen Giemsas tingieren sie sich entweder rot oder mit der Mischfarbe, d. h. violett. In der Giemsaschen Mischung ist außer dem Eosin noch Methylenazur enthalten, ebenfalls ein roter Farbstoff. Es ist daher nötig, zu entscheiden, ob die Färbung der Granula nach dieser Methode mit Eosin oder mit Methylenazur stattfindet. Wenn wir auf das Resultat der Färbung mit neutralen Farbgemischen Rücksicht nehmen, so werden wir nicht in Verlegenheit geraten mit der Erklärung, daß die Färbung mit Methylenazur stattfindet. Denn in dem obenerwähnten Falle fand die Färbung mit Fuchsin, also mit einem basischen Farbstoffe, statt. Somit kann geschlossen werden, daß auch mit Giemsa die Färbung durch einen basischen Farbstoff geschieht. Auf die Frage, warum bei der letzteren die Färbung mit Methylenazur, nicht aber mit Methylenblau stattfand, geben die Experi-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

mente Růžičkas Antwort, welche gezeigt haben, daß die natürliche Chromatophilie der Bakterien amphophil-basophil ist, aber quantitativ niedriger als jene des Zellkernes. Es muß also bei Färbung mit einem Gemische von zwei basischen Farbstoffen die Färbung mit demjenigen derselben stattfinden, das das kleinere Molekül besitzt, und das ist in unserem Falle eben das Methylenazur.

Die nahezu reifen Sporen färben sich anfangs lichtblau, zeichnen sich also, was die Chromatophilie anbelangt, durch eine größere Basophilie aus als das Chromatin; die lichte Farbnuance dürfte andeuten, daß der Farbstoff anziehenden Teilchen in der Spore eine geringere Menge vorhanden ist, als in der dunkel färbbaren Sporenanlage.

Sind wir nun einmal zu einer Erklärung der gerade erwähnten Endglieder des Entwickelungszyklus gelangt, so erklären wir uns auch die dazwischenliegenden Stadien leicht.

Die Chromatingranula beteiligen sich in großem Maßstabe an der Sporenbildung. Wenn sich die Substanz dieser Granula, welche zu der Spore zusammentreten, bei der Reifung der Spore chemisch verändert, so kann man erwarten, daß Hand in Hand mit den betreffenden morphologischen Prozessen auch tinktorielle Veränderungen schreiten werden. Tatsächlich sehen wir, daß die durch Zusammenfließen der violett gefärbten Chromatingranula entstandene, ursprünglich auch violette, Sporenanlage während ihrer Umwandlung zur reifen Spore ihre Färbung verändert. Einige Zeit färbt sie sich lichtblau, doch wird diese Färbung stets blässer und die reife Spore färbt sich substantiv überhaupt nicht mehr. Die Substanz, welche die Spore zusammensetzt, entspricht in ihren mikrochemischen Reaktionen nach Růžička dem Plastin.

Es dürfte nicht unpassend erscheinen, noch die Frage der Beteiligung der Sporenkerne und endobacillären Körper an der Sporenbildung zu berühren.

Die erste Erwähnung eines Sporenkernes macht Catterina (10), dem es mit Hilfe einer besonderen Präparationsmethode gelungen ist, in den Sporen des Bac. anthracis, megatherium und subtilis ein Chromatinkorn, das er für den Sporenkern hielt, zu färben. Diesen Kern sah Catterina bei der Keimung sich direkt teilen. Die Spore soll sich nach ihm bei dieser Teilung gleichfalls abschnüren und jede Hälfte besitzt dann den erwähnten Kern.

Mit Bezug auf diese Beobachtung einer Teilung erscheint es wahrscheinlich, daß Catterina endobacilläre Körper gesehen hat.

Ganz analog wie Catterina sah auch Nakanishi (43) in der keimenden Spore 1—2 punktförmige Kerne; Nakanishi fand diesen Sporenkern auch in der Sporenanlage. Ich habe schon früher erwähnt, daß durch Preisz nachgewiesen worden ist, daß Nakanishi den Bungeschen endobacillären Körper für Sporen hielt.

Frenzel (18) ist zu der Ansicht gelangt, daß entweder die Bakterie selbst (da die Spore kein Chromatin besitzt) der Kern ist oder daß die Zellkernstoffe in der Spore aufgelöst sind. Da sich die Spore, wenn sie die Kernstoffe als solche aufgelöst enthielte, diffus färben müßte, so ist klar, daß Frenzel durch die obige Sprachwendung nur andeuten wollte, daß in der Spore kein Chromatin enthalten ist, wozu er noch beifügt, daß sie auch keinen Kern als morphologisches Element besitzt.

Wagner (59), welcher die Sporen als Bakterienindividuen auffaßte, welche sich zum Schutze mit einer starken Membran versehen haben, die eigentlichen vegetativen Stäbchen aber als Zellkerne ansah, verlangte,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

daß man zum Beweis seiner Behauptung den Kern in der Spore nachweise, was er selbst aber, wie ich oben angab, nicht durchgeführt hat.

A. Meyer (39a) sah ebenfalls jenen Sporenkern, ja sogar auch in der lebenden Spore, aber, wie er sagt, nur in einem bestimmten Entwickelungsstadium. Anfangs ist dieser Zentralkern mittelst radiärer, plasmatischer Bänder mit der Peripherie verbunden.

Meyer scheint das in einem bestimmten Stadium der Sporenentwickelung vorkommende Chromatinkorn und die radiäre Struktur des Bungeschen Körperchens, welche schon Růžička (51c, Fig. 8) beschrieben und abgebildet hat, auf ein und dasselbe Objekt bezogen zu haben, was selbstverständlich ein Irrtum ist.

Mühlschlegel (42a, b) konstatierte mit Hilfe der Färbung nach Neisser (44) in der ebenfalls noch nicht abgelösten Spore ein sich rot färbendes Körnchen — den Sporenkern; auch Grimme (20) konstatierte einen solchen.

Um sich eine richtige Vorstellung von der Bedeutung des Chromatinkorns, das in einem bestimmten Zeitpunkt der Sporenentwickelung auftritt, zu machen, ist es notwendig, auf die Angaben von Preisz von dem Sporenkerne etwas näher einzugehen.

Preisz (49) hält denjenigen Teil der Körner, welche die den fertilen vom sterilen Pole abtrennende Scheidewand aufkommen lassen, der in die Sporenanlage übergeht, für den Sporenkern. Meiner Ansicht nach ist die Möglichkeit, daß es sich um einen Kern handelt, eben durch die Beteiligung dieses Kornes an der Scheidewandbildung ausgeschlossen. Die darauf bezüglichen Bilder wurden von Preisz unrichtig aufgefaßt, wie Růžičkas Beobachtung dieses Vorganges an Kokken und Bacillen zeigte; das Korn wird nämlich nicht passiv geteilt, sondern es wächst selbst in die Scheidewand aus. Es ist also klar, daß das Chromatinkorn, welches Preisz für den Mutterkern hält, aus welchem der Sporenkern durch passive Teilung entstehen soll, als ein Kern überhaupt nicht aufgefaßt werden kann, worauf übrigens Růžička schon aufmerksam gemacht hat. Seiner Ansicht hat Migula zugestimmt[1]). Zugleich ist jedoch offensichtlich, daß Preisz den ganzen Sporenbildungsprozeß mißverstanden hat, da er ja doch auch den Krompecherschen Körper, der sich überhaupt niemals an einer Scheidewandbildung beteiligt, für den Bakterienkern erklärt, somit als Kern zwei total verschiedene Gebilde bezeichnet hat.

Preisz hat also den Nachweis eines Sporenkernes nicht erbracht. Doch ist aus seinen Ausführungen zu ersehen, wie eng mit der Frage des Sporenkernes die Frage der Beteiligung endobacillärer Körper an der Sporenbildung zusammenhängt.

Auch dieses Problem wurde verschiedentlich aufgefaßt.

Bunge (7) hielt den nach ihm benannten Körper für die Vorspore; Nakanishi (43) stellte sich vor, daß die Sporenbildung eine intracelluläre Einkapselung des Bungeschen Körpers ist.

Diese Ansichten sind aus dem Grunde unannehmbar, weil sie die Färbbarkeit der Sporenanlage nicht erläutern; die Bungeschen Körper färben sich nämlich nicht.

Krompecher (32) und Preisz (49) meinen wieder, daß sich an der Sporenbildung das Körperchen Krompechers direkt beteiligt, welches in den Bungeschen Körper eingeschlossen ist, wogegen sie die Rolle des Bungeschen Körpers auf diejenige der Reservesubstanzen reduzieren. Aber das sind bloße Hypothesen, die vielleicht plausibel, doch nicht bewiesen sind.

---

[1]) Lafars Handbuch der technischen Mykologie. Bd. I. 1. Lief. p. 67.

Wie Růžička (51d) hervorgehoben hat, ist es zwar möglich, daß sich diese zwei letztgenannten Gebilde an dem Bau der Spore beteiligen. Durch Kombination des Naphtolblaus mit Fuchsin gelang es ihm nämlich, in der Sporenanlage (solange sie sich noch färbt), ein blaues Körnchen zu färben. Mit Naphtolblau färben sich aber auch die von Dietrich und Liebermeister (11) beschriebenen Körnchen, welche dem Körperchen Krompechers entsprechen. Růžička meint aber, daß man mit demselben Rechte das Bild des von ihm mit Naphtolblau in der Sporenanlage entdeckten blauen Körnchens als Ausdruck beginnender Umwandelung der färbbaren Sporenanlage in die eigentliche Sporensubstanz ansehen könnte; in der reifen Spore ist nämlich dieses Körnchen nicht mehr zu finden.

Germination der Spore.

Wie man aus dem, was ich oben über die reife Spore mitgeteilt habe, ersieht, so ist selbe durch ihren hohen Glanz und hohes Lichtbrechungsvermögen gekennzeichnet. Sie besteht nach dem eben Angeführten aus dem Plastin. Das Chromatin sahen wir allmählich bei der Reifung bis auf einen kleinen Rest in Form von einem Körnchen verschwinden, endlich verschwindet auch dieses. In Sporen, die sich zur Auskeimung anschicken, begegnen wir aber einer hochinteressanten Erscheinung, durch welche manche irrige Ansichten der Autoren ihre Erklärung und Korrigierung finden. Vor der Auskeimung erscheint auf einmal das zum Aufbau des vegetativen Stäbchens nötige Chromatin (auf Grund der Umwandlung der die Spore zusammensetzenden Substanz) wieder, und zwar wiederum in der Form eines Körnchens, das sich allmählich vergrößert, bis das Chromatin sich über das ganze Gebilde ausbreitet. Dadurch wird das auffallende zeitliche Verschwinden des „Sporenkernes“ der Autoren erklärt und man braucht nicht zu verschiedenen irrigen Auffassungen. wie z. B. zu veränderten Färbungsverhältnissen infolge einer Aenderung der Beschaffenheit der Sporenmembran, Zuflucht zu nehmen.

Die Spore keimt beim Bac. nitri polar, indem die Sporenmembran an einem Pole platzt und das Stäbchen herauswächst. Die geplatzte Membran besteht noch einige Zeit an einem Pole des Stäbchens und wird endlich weggeworfen und das Stäbchen fängt an, sich in der oben geschilderten Weise zu entwickeln.

Sporoide Körper.

Im Entwickelungszyklus des Bac. nitri ist auf eine eigenartige, schon bei mehreren Bakterien beobachtete Erscheinung aufmerksam zu machen, nämlich auf die sogenannten sporoiden Körper. Růžička (51d) hat dieselben in morphologischer und mikrochemischer Beziehung genau untersucht und auch ihre wahrscheinliche Bedeutung dargelegt. Eisenberg (12), der die exakte morphologische Erforschung anerkennt, hat eine andere Erklärung dieser Körper versucht, indem er ihren Fettcharakter zu beweisen sucht.

Růžička (51d) beschrieb die Entstehung dieser Gebilde des Bac. anthracis bei Züchtung auf Glyzerinagar. Bei Bac. nitri kommt es zur Bildung der sporoiden Körper hauptsächlich auf der Kartoffel und

auf gewöhnlichem und zuckerhaltigem Agar. Man kann überhaupt beim Bac. nitri eine intensive Neigung zur Bildung dieser abnormalen Entwickelungsformen konstatieren.

Nach zirka 24-stündiger Züchtung auf der Kartoffel im Thermostaten bei 45° fangen an den Enden der Fäden des Bac. nitri Individuen zu erscheinen an, welche auf einem Pole ein sporenähnliches Gebilde tragen (Fig. 48). Nähere Untersuchung ergibt jedoch, daß wir es in diesem Falle mit keiner Spore zu tun haben. Das Gebilde ist einigermaßen angeschwollen, ähnlich wie auch die Spore, und ist ebenfalls auch polar gelagert. Es zeichnet sich durch einen glänzenden, ungefärbten Inhalt aus wie die Spore; man kann aber konstatieren, daß die Färbung seiner Wandhülle noch stärker ist, besonders an seinem äußeren Ende. Wenn wir aber Individuen sehen, wie z. B. Fig. 45, so müssen wir gestehen, daß das nicht der Fall ist. Wir sehen hier nämlich die Chromatinmasse in großer Dicke über dem sporenähnlichen Gebilde gelagert, so daß sofort klar wird, daß es sich um keine polar gebildete Spore handelt. Der intensiven Färbung dieser Kappe entspricht auch eine viel intensivere Färbung der Partie auf der entgegengesetzten Seite des Körpers am anderen Pole des Individuums, kurz das ganze Stäbchen ist hyperachromatisch. Daß solche Gebilde keine Sporen sind, geht auch aus dem Umstande hervor, daß wir in ihnen Scheidewände finden (Fig. 43, 46), was bei der Spore ausgeschlossen ist. Allerdings ähnelt das ganze Gebilde durch seinen ungewöhnlichen Glanz sehr einer Spore. Vielleicht ist das aus der Verwandtschaft der Masse, aus der sie zusammengesetzt sind, zu erklären, wie auch Růžička (51 d) meint.

Den oben beschriebenen Befund könnten wir für den Beginn der Entwickelung von sporoiden Körpern in der Kultur halten.

In älteren Kulturen finden wir aber schon ziemliche Modifikationen dieser Entstehungsweise. So sehen wir zuvörderst, daß sich die sporoiden Körper nicht nur auf die Endindividuen der Fäden beschränken, sondern daß ihre Zahl im Verlaufe des Fadens zunimmt; schließlich können sämtliche Fäden sporoide Körper in großer Anzahl beherbergen.

Das Wachstum der sporoiden Körper geschieht aber nicht nur numerisch, sondern auch in den Dimensionen, wie auch schon Růžička (l. c.) konstatierte. Im ersten Falle enthält der bis jetzt noch nicht verdickte Bakterienfaden Individuen mit einem oder mehreren sporoiden Körpern, welche dem ersten Anscheine nach entweder Vakuolen oder Fetttröpfchen sehr ähnlich sind (Fig. 41, 42, 43). Doch ist, wie Růžička gezeigt hat und ich bestätige, diese Aehnlichkeit nur eine äußere. An einer anderen Stelle begegnen wir einem schwach diffus gefärbten Faden mit einer Menge von Scheidewänden. Diese Scheidewände und die Polkappe sind in den nach Giemsa tingierten Präparaten intensiv violett gefärbt (Fig. 44), d. h. hyperchromatisch.

Im zweiten Falle, wo die sporoiden Körper auch an Dimensionen zunehmen, bemerken wir hypertrophische Fäden, nicht selten Scheinfäden, welche gänzlich mit Sporoidkörpern vollgestopft sind (Fig. 47). Die Sporoidkörper, die anfangs konform der Dicke des Bakterienfadens länglich waren und eher Sporen ähnelten, nehmen jetzt durch Hypertrophie die Gestalt großer, vielfach isodiametrischer Kugeln an (Fig. 42, 43). Zwischen einzelnen Sporoidkugeln beobachten wir dunkel gefärbte, hyperchromatische Chromatinpartieen. Die Konturen der früheren Fäden verschwinden gänzlich. Manchmal finden wir in diesen Kugeln dicke Scheidewände. Wo die Entwickelung der Involutionsformen noch nicht das

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Maximum erreicht hat, kann man hie und da Individuen mit einer deutlichen netzig-alveolären Struktur beobachten; doch verfallen auch diese in einer mehr oder minder kurzen Zeit dem Schicksal aller Fadenindividuen — sie verwandeln sich schließlich ebenfalls in Sporoidkugeln.

Zwischen diesen Gebilden kann man auch keulenförmig verdickte Fäden (Fig. 49) von direkt kolossalen Dimensionen entdecken, welche nach Giemsa schwach blau oder schwach violett gefärbt sind und durch ihr ganzes Aussehen die Abnormität, wo nicht das Pathologische dieser Formen dartun.

Es ist zu erwähnen, daß ich beim Beginn der Entwickelung der Sporoidkörper ebenfalls, wie auch Růžička (l. c.), beobachten konnte, daß in der Kultur gleichzeitig mit den Sporoidkörpern auch Sporen erscheinen können, doch nur in kleinerer Anzahl und nur für kurze Zeit.

Was die Bedeutung der Sporoidkörper für die allgemeine Biologie und speziell die Biologie der Bakterien anbetrifft, so beschränke ich mich bloß auf die Wiedergabe der Auffassung Růžičkas (l. c.), welcher ich auf Grund meiner Beobachtungen völlig zustimme.

Durch Färbung der Sporoidkörper mit dem Millonschen Reagens zeigt Růžička ihre Zusammensetzung aus Eiweißkörpern.

Auch ich habe die Sporoidkörper auf Eiweißstoffe mittels Millonschem Reagens untersucht. Aus einer nichts als isolierte Sporoidkörper enthaltenden alten Kartoffelkultur des Bac. nitri nahm ich von der Oberfläche des Belages ein Stückchen, das ich in kleine, $^1/_4$—$^1/_2$ mm im Durchmesser messende Partikel auf dem Deckgläschen direkt im Millonschen Reagens zerteilte. Nach Erwärmung färbten sich diese Partikel typisch rot. Durch die Zerdrückung eines solchen roten Klümpchens mit dem Deckglas entstand ein makroskopisch diffus gelbrötlich gefärbter Brei. Unter dem Mikroskop zeigte sich dieser Brei allein aus diffus gelblich gefärbten Sporoidkörpern zusammengesetzt.

Da ich a priori ausschließen kann, mit der Probe auch ein Stückchen des Kartoffelbodens mitgenommen zu haben, mit dem Mikroskop aber nicht als Sporoidkörper konstatiert habe, so muß ich das positive Resultat der Millonschen Reaktion bloß auf den Eiweißcharakter dieser Sporoidkörper beziehen, und komme somit zu demselben Resultate, welches Růžička mitgeteilt hat.

Es entsteht die Frage, wie sich die Sporoidkörper des Bac. nitri gegen fettlösende Substanzen verhalten.

In Alkohol und Aether lösen sich die Sporoidkörper des Bac. nitri nicht auf, wie auch Růžička (l. c.) u. a. an verschiedenen Objekten bewiesen, obwohl sie sich auflösen müßten, wenn sie aus Fett beständen, wie Eisenberg (12) behauptet. Fig. 41 stellt uns ein Präparat des Bac. nitri vor, das ich 5 Stunden im Aether ließ und dann mit Lugolscher Lösung färbte.

Bei der Verdauung im Magensaft erleiden die Sporoidkörper, wie auch Růžička zeigte und ich mich durch eigene Versuche überzeugte, gar keine Veränderungen.

Was die Frank-Schwarzschen Reaktionen ($CuSO_4$, $MgSO_4$ usw.) anbelangt, geben, wie auch Růžička bewies, die Sporoidkörper die gleichen Reaktionen wie die Sporen.

Eisenberg (l. c.) versucht seine Ansicht von der Fettnatur der Sporoidkörper hauptsächlich durch Tinktionsexperimente zu stützen, indem er glaubt, daß, wenn sich die Sporoidkörper mit den Fettfarbstoffen (wie z. B. Sudan III) färben, das ganz sicher auch auf ihre Fettnatur hinweist. Diese Experimente sind zwar interessant, doch erbringen sie keinen Beweis in dieser chemischen Frage.

Als das entscheidende Kriterium des Fettcharakters der Sporoidkörper darf man nicht ihre Fähigkeit, verschiedene Farbstoffe aufzunehmen, hinnehmen, selbst wenn die letzteren sogenannter neutraler Natur wären. Hier kann nur die Chemie entscheiden.

Wenn wir uns aber der chemischen fettlösenden Mittel bedienen, z. B. des Alkoholäthers oder der heißen alkoholischen Kalilauge, so verändern sich die Sporoidkörper nicht, können also nicht aus Fetten zusammengesetzt sein. Sie können aber auch nicht aus Lipoiden bestehen, da sich dieselben teils ebenfalls in den fettlösenden Agentien auflösen, teils sich vital mit basischen Farbstoffen färben, was die Sporoidkörper nicht tun.

Es kann als gesichert betrachtet werden, daß im Bakterienkörper Fett enthalten ist; daß es sich aber in so großer Menge anhäufen könnte, daß es die ganzen (alten) Kulturen in Form von Sporoidkugeln bilden würde, ist schwer denkbar, da dies voraussetzen würde, daß sich alle Individuen überhaupt in Fett verwandelt haben. Es gibt dafür nirgends eine Analogie, auch nicht bei Phosphor- und Arsenvergiftungen.

Daß sich das vermeintliche Fett der Sporoidkörper reichlicher durch Einwirkung der Kohlenhydrate des Nährbodens bildete, so bei Anwendung von Glyzerin- und Zuckeragar, wie Eisenberg meint, ist nicht sehr wahrscheinlich, da z. B. Meyer (39b) nachgewiesen hat, daß Bac. tumescens auf kohlenhydratlosen Böden (z. B. in Asparaginlösung) etwas Fett bildet, auf einem Boden, der an Kohlenhydraten reich ist (z. B. Agar), aber noch weniger. Bac. nitri bildet die Sporoidkörper auch auf gewöhnlichem Agar, und Zettnow (62b) fand dieselben bei Spirillum undula majus sogar im Wasser, das Pepton, aber kein Kohlenhydrat enthielt. Dagegen ist in allen diesen Fällen konstatiert worden, daß die Bildung der Sporoidkörper nur bei ungewöhnlich intensiver Ernährung und starkem üppigen Wachstum der Bakterien stattfindet, ein Umstand, den auch Růžička hervorgehoben hat. Es ist klar, daß zwischen diesen Prozessen ein kausaler Zusammenhang herrscht.

Auf die Bedeutung der Sporoidkörper und die Ursache ihrer Entstehung werfen die Darlegungen Růžičkas (l. c.) einigermaßen Licht: Aehnlich wie der Nahrungsüberfluß bei Protozoen sogenannte Depressionszustände hervorruft, bei welchen infolge tief gestörter normaler Kernplasmarelation endlich die Kultur abstirbt, so kommt es analog auch beim Bac. anthracis infolge abnorm erhöhten Stoffwechsels zur Ausbildung von Depressionszuständen, die sich durch Ausbildung von Sporoidkörpern kundgeben und ebenfalls mit der Vernichtung der Kultur endigen.

Dieser Erklärung glaube ich auf Grund meiner Beobachtungen am Bac. nitri völlig zustimmen zu können.

Die Sporoidkörper wurden schon früher beschrieben, aber anderweitig erklärt: So hielt sie Preisz (49) für hypertrophische Körper Bunges, was sie ja teilweise auch sind; aber diese Erkenntnis gibt keinen Aufschluß über ihre biologische Bedeutung.

Auch Zettnow (62b) hat die Sporoidkörper bei Spirillum undula majus beschrieben, doch keine Erklärung derselben gegeben. Er meint nur, daß sie eine Aeußerung des Absterbens sind. Wie sie aber mit dem Absterben zusammenhängen, zeigte eben Růžička (51d).

Vielleicht sind auch die von Raýmann und Kruis (50) von Bac. tumescens abgebildeten Formationen, welche sie als Vakuolisation erklären, Sporoidkörper (50; Taf. V, Fig. 9).

Mit Zettnows Sporoidkörpern (l. c.) bei Spirillum undula majus sind die vermeintlichen „Sporen“ des Spirillum volutans Amatos (1; Taf. II, Fig. 21—35) von so auffallender Kongruenz, daß ich an der Identität derselben nicht zweifle. Man müßte ja auch, wenn Amatos Deutung richtig wäre, zugeben, daß ein Spirillenindividuum in seinem Innern bis 9 Sporen auszubilden imstande wäre.

Bacillus nitri und die Frage des Bakterienkernes.

Es erscheint mir kaum möglich, cytologische Studien an Bakterien anzustellen und der Frage der Existenz eines Kernes bei denselben auszuweichen. Ich werde daher versuchen, die Resultate meiner Beobachtungen zu dieser Frage in Beziehung zu bringen.

Die Ansichten der Autoren gehen bezüglich derselben nach mehreren Richtungen auseinander.

Die erste Richtung kann man kurz definieren als eine absolute Negation nicht nur des Bakterienkernes, sondern auch seiner Aequivalente. Die Autoren dieser Richtung, Fischer (16), Migula (40), Massart (36), halten die Bakterien für kernlose Organismen, ihre Substanz für färbbare Körnchen einschließendes Cytoplasma; diese Körnchen halten sie aber für keine Kernsubstanz, sondern für Stoffwechselprodukte. Den Kernen ähnliche Gebilde hält Migula (40) entweder für optische Täuschungen (so auch den Kern Schottelius’, dem die optische Erscheinung eines zentralen Stäbchens entsprechen soll, das man z. B. an einem im Wasser unter dem Deckgläschen beobachteten Glasstäbchen sehen kann) oder für Artefakte, welche durch Fällungen (Gerinnungen) bei der Tinktion entstanden sind, und gibt nur die Existenz von Vakuolen — ein Analogon der Safträume in der Pflanzenzelle — zu.

Die zweite Richtung läßt die Existenz eines Kernes oder eines Kernäquivalentes zu und faßt daher die Bakterien als echte Zellen auf. Diese Auffassung erleidet freilich bei verschiedenen Autoren verschiedene Modifikationen.

Hierher gehört die Ansicht Bütschlis (9), nach welcher die höheren Bakterien (hauptsächlich Schwefelbakterien) einen sogenannten „Zentralkörper“ enthalten, welcher nahezu die ganze Masse des Individuums einnimmt, wogegen sich das Cytoplasma je nach der Größe des Objektes auf eine mehr oder minder breite äußere Zone beschränkt, welche endlich bei den kleineren Bakterien der Hülle entspricht. Den „Zentralkörper“ Bütschlis muß man für ein Kernäquivalent halten.

Dem „Zentralkörper“ Bütschlis steht das axiale Fädchen Schottelius’ (53), Kletts (30) und Fraenkels (17) am nächsten.

Einen echten Kern glaubte Feinberg (15) durch seine Färbungsversuche konstatiert zu haben. Sein Standpunkt ist jedoch ein prinzipiell irrtümlicher. Wie A. Fischer (16) gezeigt hat, kann nämlich durch Färbungsversuche der Kerncharakter eines Gebildes überhaupt nicht nachgewiesen werden. Mikrochemische Reaktion hat aber Feinberg keine unternommen.

An dieser Stelle muß ich weiterhin auch bemerken, daß man in neuerdings erschienenen Arbeiten [z. B. Guilliermond (21) und Amato (1)] Feinberg unrichtigerweise die Auffindung eines zentralen Filamentes zuschreibt, während er doch 2—4 rote isolierte Körnchen als

Kerne beschrieben hat, oder aber beinahe den ganzen Inhalt des Bakteriums bis auf einen unbedeutenden blau gefärbten Saum (Kapsel) rot gefärbt erhielt, oder schließlich ein Stäbchen, das in der Mitte eine deutliche Einschnürung zeigte, beobachtet hat. Von einem zentralen Faden ist aber bei ihm nirgends die Rede.

Die von Nakanishi (43) als Kerne beschriebenen Gebilde erwiesen sich, wie Preisz (49) konstatierte, als Bungesche Körper, und an ihrer Kernnatur zweifelte schon Ascoli (2b), der sie früher beschrieben hatte.

Dem zentralen Stäbchen Schottelius' entsprechen auch die von Trambusti und Galeotti (57) beschriebenen Gebilde. Aber schon die weiteren Prozesse des Zerfalls dieses Körpers in Körnchen, die peripherische Anordnung der letzteren zu Ringen und die Entstehung sporenähnlicher Körper innerhalb der Ringe, welche zur Vermehrung der näher unbekannten Bacillen dienen sollen, schließen aber den Kerncharakter derselben aus. Die Befunde Trambustis und Galeottis, welche Swellengrebel (56, p. 621) „eigentümlich und unwahrscheinlich" nannte, sind schwer zu identifizieren, da sie dieselben als eine zufällige Erscheinung an einem näher nicht bestimmten Wasserbacillus beschrieben.

Die von Meyer (39) und Grimme (20) für Zellkerne gehaltenen Granula entsprechen dem Entogranulum. Meyer sagt in einer späteren Abhandlung (39b): „Ich sah sie (d. h. die Zellkerne) jetzt in ganz jungen und älteren Sporenanlagen in Einzahl, in in Keimung begriffenen Sporen in Einzahl, in den Keimstäbchen in Ein- oder Zweizahl, in den Schwärmern meist in Mehrzahl."

Wenn wir diese Behauptung Meyers mit meinen obigen Schilderungen der Struktur beim Bac. nitri vergleichen und die mikrochemischen Resultate Růžičkas auf dieselben applizieren, so wird uns klar, daß es sich bei den Kernen Meyers um nichts anderes handelt, als um jene Nuklein-Strukturgranulationen, welche bei den Bakterien überhaupt im Protoplasma vorkommen, und welche besonders bei der Sporulation die den Meyerschen ähnlichen Bilder darbieten. So kann man Meyers Abbildung 3 sehr gut mit meiner Fig. 18 bei der Sporulation des Bac. nitri vergleichen.

Der Kern Sjöbrings (55) und auch die Kerne Illkewiczs (27) entsprechen, wie ich oben dargestellt habe, ebenfalls dem Ektogranulum.

Löwit (33) meint, daß die Bakterien komplette Zellen sind, und zwar in dem Sinne, daß der Bakterienkörper dem Zellkerne entspreche, welcher von einem Zellkörper umgeben ist, der aber erst auf Grund der Beizenfärbung Loefflers sichtbar wird.

Ganz analog wie Löwit denkt auch Boni (5), welcher mit eigener Methode, nach welcher bei allen Bakterien eine Kapsel nachgewiesen werden könne, im Bakterienkörper zwei scharf voneinander getrennte Teile unterscheidet: a) Den Zentralkörper, der sich intensiv färbt, b) seine periphere, farblose, scharf konturierte Zone (Kapsel). „Mehrere Merkmale geben zu der Vermutung Anlaß, daß die periphere Schicht dem Zellprotoplasma, das Zentrum dem Zellkern entspricht" (l. c. p. 707).

Dazu ist folgendes zu bemerken: Vor allem erwähnt Boni keine Merkmale, welche zu dieser Vermutung Anlaß geben. Zweitens ist bei mehreren Bakterienarten durch chemische Analyse bewiesen worden, daß die Kapsel, welche Löwit und Boni für das Cytoplasma, also für eine lebendige Substanz halten, aus Polysacchariden und ähnlichen Stoffen, welche die lebendige Substanz nicht zusammensetzen können, besteht, und deswegen kein Cytoplasma sein kann. Außerdem ist von niemand und auf keinerlei Weise bewiesen, daß sich die Kapsel an den Lebensprozessen der Bakterien in solcher Art und Weise, wie es das Zellcytoplasma tut, beteiligt. Wenn dies aber nicht bewiesen ist, dagegen jedoch konstatiert ist, daß die chemische Zusammensetzung der Kapsel der Zusammensetzung des Protoplasmas nicht entspricht, dann muß man die Ansicht, daß die Kapsel ein Analogon des Zellkörpers wäre, fallen lassen. Ist dies aber einmal geschehen, so können wir Boni in Hinsicht auf die Betrachtung des eigentlichen Bakterienkörpers als eines Zellkernäquivalentes voll beistimmen.

Bezüglich der von Vejdovský (58a, c), Rayman und Kruis (50), weiter Mencl (38a, b, c) beschriebenen Kerne enthalte ich mich jeder Kritik, da ich beim Bac. nitri, den ich studierte, keinerlei Gebilden begegnete, die ich mit ihnen analogisieren könnte. Wie ich schon früher erwähnt habe, erklärte sie Guilliermond (21b) für scheidewandbildende Körner[1]. Diese beobachtete ich freilich auch. Außerdem sei erwähnt, daß nach Guilliermonds[2] Ansicht einige von den Bakterien Mencls (38b) keine echten Bakterien sind, sondern wahrscheinlich den höheren Bakterien, wie z. B. der Cladothrix, entsprechen. Swellengrebel (56b, p. 66) bemerkt außerdem von der Methode Mencls: ....., habe ich Mencls Anweisungen genau befolgt; es ist mir aber nie gelungen, weder bei Bac. maximus buccalis noch bei Spirillum giganteum einen echten Kern aufzufinden.“ Meyer (39c, p. 335) endlich meint, daß Mencl für Kerne Volutinkörner hielt, welche eigentlich Körner der Reservefettstoffe vorstellen.

Bezüglich des Kernes, den Vejdovský (58) beim Bac. Gammari beschrieben hat, erklärte Schaudinn auf dem Zoologenkongreß in Bern, nachdem er von seinen Präparaten Einsicht genommen hatte, daß das Bacterium Gammari zu den Saccharomyceten gehört, zu welcher Ansicht neuerdings auch Guilliermond (21b, p. 36 ..... „Le Bact. Gammari offre de grandes similitudes cytologiques avec les levures“) und Amato (1, p. 392) gelangt sind. Grimme (20) hält weiter einige der von Vejdovský beschriebenen Bilder außerdem für Sporozoen oder deren Entwickelungsstadien (l. c. p. 249). Außerdem erklärt Pieczenko (47) die Bilder Vejdovskýs und Mencls für Artefakte, welche wahrscheinlich durch unrichtige Entfärbung bei der Tinktion mit Heidenhainschem Eisenhämatoxylin entstanden sind. Was die von Rayman und Kruis gewonnenen Bilder anbetrifft, so stimme ich Swellengrebel bei, daß Artefakte auszuschließen seien; um konstatieren zu können, inwiefern die Erklärung Guilliermonds richtig ist, daß sie scheidewandbildende Körnchen sind, die ich, wie oben erwähnt, auch beim Bac. nitri sehr deutlich sah, wäre es zuvor notwendig, meine Befunde beim Bac. nitri, die ich besonders mit Hilfe der vitalen Tinktion und der oben angeführten Methoden gewann, unter Anwendung derselben Methoden bei den Objekten von Kruis und Rayman zu kontrollieren.

Swellengrebel (56a, p. 621) meint von den Ansichten der oben und zuletzt genannten Autoren, daß sie auch im Falle der Gültigkeit keinen Anspruch auf allgemeine Gültigkeit machen könnten.

---

[1] l. c. p. 35: ... ces auteurs ont confondu les granules colorables, qui sont l'origin des cloisons transversales avec des noyaux.

[2] l. c. p. 36: Quant à Mencl, les espèces où il a observé un noyau se rapportent toutes au genre Cladothrix ...

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zukal (65), der Cyanophyceen studierte, kommt, ohne irgendwelche eigene Beobachtungen bei den Bakterien angestellt zu haben, zu dem Resultat, daß die Bakterien echte Kerne besitzen. Die von Ernst beschriebenen und von ihm zuerst für Kerne angesprochenen metachromatischen Körnchen, welche den roten Körnchen Bütschlis entsprechen sollen und nach Bütschli bloß strukturelle Bestandteile des Zentralkörpers sind, proklamiert Zukal als Zellkerne; er kehrt also zur Ansicht Ernsts zurück, welche schon von Bütschli widerlegt und von Ernst selbst verlassen worden ist. Die Kerne können nach Zukal in die Sporen übergehen, indem sie sich mit einer gewissen Menge Protoplasma umgeben, welche die Membran ausscheidet. Je nach der Anzahl der Körner teilt Zukal die Bakterien im Zusammenhang mit der Sporenbildung in ein-, zwei- bis mehrkernig.

Für mehrkernige Organismen hält auch Fedorowitsch (14) die Bakterien, welcher im Bakterienkörper 3 Reihen Körnchen unterscheidet. Die Körnchen seiner I. Reihe, welche immer peripher in der Zelle gelagert sind, und welchen einige von den Körnchen Wagners entsprechen sollen, sind nach ihm die Zellkerne und zwar aus dem Grunde, weil sie während der ganzen Lebensentwickelung erhalten bleiben.

Meiner Ansicht nach entsprechen auch diese Körnchen den roten Körnern Bütschlis, der schon im Jahre 1890 nachdrücklich ihre häufige periphere Lagerung betonte; sie sind sicher auch mit den fuchsinophilen Körnern Sjöbrings identisch, welcher ein ganz anderes Gebilde, nämlich den Bungeschen Körper, als Kern ansah.

In die Kategorie der querwandbildenden Körner gehören auch einige neuerdings von Amato (1) Taf. I, Fig. 11 u. a. beschriebenen Bildungen.

Bilder, die ich beim Bac. nitri mit der Methode Cesaris-Demels nach Amato[1]) gewann, korrespondieren gänzlich mit den Bildern, welche Kruis und Rayman (50) beschrieben haben, und sind mit denjenigen, welche ich von mit Sublimat fixierten und nach Giemsa tingierten Präparaten erhielt, völlig kongruent. Es ist wirklich zu verwundern, daß Amato, der die Methode Cesaris-Demels angewendet hat, die intimen Beziehungen dieser Granula zu der Querwandbildung, welche schon Růžička im Jahre 1902 richtig beschrieben und erklärt hat, nicht wahrgenommen hat, und sich ähnlich wie auch früher andere Autoren zu einer unbegründeten Erklärung jener Granula als echte Kerne verleiten ließ. Ich sah allerdings an den vital tingierten Präparaten auch ähnliche „Zentralkörperchen“, aber ich habe bereits früher die Entstehung dieser Bilder besprochen; es handelte sich eben um Bacillen, bei welchen das querwandbildende Körnchen voll zum Beobachter gekehrt war. Diese Körner bilden stets Querwände aus, sie bleiben nie isoliert, sondern sie wachsen in einen Faden (Ring) aus, ein Umstand, der, wie bei Besprechung der Resultate Růžičkas auch Migula[2]) erklärt hat, gegen die Kernnatur derselben spricht.

Es erscheint nicht möglich, die von Amato als Kerne beschriebenen Granula vielleicht mit den metachromatischen Babes-Ernstschen Körnchen oder mit den Körnern Růžičkas zu identifizieren, denn es gelang mir die letztangeführten Gebilde bei Bac. nitri nicht nach Amatos Methode zu finden. Auch den von Fedorowitsch (14) beschriebenen Körnchen I. Reihe, welche dieser Autor für Kerne hielt, entsprechen sie nicht, denn diese sind immer nur in Mehrzahl vorhanden. Es kann aber nicht die Möglichkeit ganz von der Hand gewiesen werden, daß die Kerne Amatos den von Wagner (59) beim Bac. typhi und coli beschriebenen analog sind, welche Wagner auch für Kerne erklärte, von welchen aber Růžička schon im Jahre 1902 gezeigt hat, daß sie nichts anderes als querwandbildende Körner sind.

---

[1]) Vitale Tinktion mit 1-proz. Wasserlösung von Brillantkresylblau.

[2]) Lafars Handb. d. techn. Mykologie. Bd. 1. p. 67.

Was die Körnchen anbetrifft, welche Amato (1) für Kerne hält, hätte ich noch das Folgende zu bemerken: Wie ich schon am Anfang erwähnt habe, fand Amato in den Bacillen ein Körnchen, das völlig dem schon öfters erwähnten scheidewandbildenden Körnchen entspricht. Dieses Granulum ist nach Amato ein echter Kern. Nach der Behauptung Amatos geht dieses Körnchen auch in die Spore über, in welcher es sich jedoch später nicht mehr nachweisen läßt, nach der Hypothese Amatos darum, weil die Membran die Fähigkeit, Farbstoffe durchzulassen, verliert. Hierüber habe ich mich schon früher geäußert.

Die Ansicht Amatos über die Kontinuität des Kernes von der Spore durch die Bakterie in die neue Spore entsprießt bloß einer Kombination von Bildern, welche, wie ich gezeigt habe, in Wirklichkeit nicht direkt hintereinander folgen, außerdem nicht lückenlos den ganzen Prozeß wiedergeben. Daher müssen die Behauptungen Amatos als nicht genügend gestützt angesehen werden.

Aus den Ausführungen Preiszs (49) ergibt sich, daß er, wie ich bereits bei Besprechung der Frage des Sporenkernes dargelegt habe, einerseits die metachromatischen Körperchen, andererseits aber auch noch die Körper Krompechers für echte Zellkerne hält.

Zur Kategorie der sogenannten metachromatischen Körnchen gehören vielleicht auch die von Swellengrebel (56b) bei Bacterium binucleatum beschriebenen Körnchen. Wenigstens deuten das die Bilder Swellengrebels von ruhenden Bakterien an. Swellengrebel beschreibt allerdings Prozesse, welche auf Grund von Umwandlungen dieser Körnchen in eine Chromatinspirale — ein Kernanalogon — die Ansicht des Autors, daß es sich hier um echte Zellkerne handelt, begründen sollen. Diese Beschreibung ist durch eine Kombination von Bildern gewonnen, deren Folge zwar möglich ist; aber auch schon nur einen allgemeinen Beweis von der Richtigkeit der Kombinationen bei Anwendung des Heidenhainschen Eisenhämatoxylins (Entfärbung) zu führen, wäre außerordentlich schwierig; wenigstens kann die gleichberechtigte Möglichkeit anderer Erklärungen nicht ausgeschlossen werden. Andererseits ist aber die völlige Analogie der Körner aus Swellengrebels Bildern ruhender Bacillen mit Babes-Ernstschen Körperchen unleugbar.

Analoge Bilder, wie ich sie oben als Bakterienteilung beschrieben habe, ergeben auch die Arbeiten Mencls (38), welcher aber die sekundären Scheidewände in den Tochterhälften des Individuums für Polarplatten, für ein Stadium einer primitiven, mitotischen Anaphase hält.

Diese Deutung wurde durch Guilliermond (21b) widerlegt und auf die Scheidewandbildung bezogen. Wie wäre es denn auch möglich, meine Fig. 6b, welche mit den Bildern Mencls ganz analog ist, als Mitose zu deuten? In Fig. 6b hätten wir in einer Hälfte eine, in der zweiten zwei Polarplatten. Auch Fig. IIIA bei Guilliermond wäre anzuführen, denn in diesem Falle hätten wir im ganzen eine einzige Polarplatte.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

In die Kategorie der den Zellcharakter der Bakterien verteidigenden Autoren gehört mit Hinblick auf sein Bacterium binucleatum auch Swellengrebel.

Auf Grund von morphologischen Untersuchungen und mikrochemischen Reaktionen gelangt Swellengrebel (56b) zur Ansicht, daß das Bacterium binucleatum zwei echte Kerne besitzt. Die Tatsachen, welche Swellengrebel als Argument der Kernnatur dieser zwei Gebilde anführt, sind gewiß richtig. Nichtsdestoweniger scheint mir doch die Konklusion Swellengrebels ein wenig gezwungen zu sein.

Seine Argumente sind folgende:

1) Die als Kerne gedeuteten Körner besitzen diejenige Größe, welche die Kerne, wenn sie anwesend wären, vielleicht haben würden. Dieses Argument kann weder allein noch in Verbindung mit den übrigen Gründen Swellengrebels für irgendwie wichtig gehalten werden, da man über die Größe eines Kernes, der erst nachgewiesen werden soll, keine Hypothesen anstellen kann. Desgleichen kann man in Ansehung der von A. Fischer gebotenen Gründe auch die Färbung nicht als einen Beweis der Kernnatur der Granula hinnehmen, wie dies Swellengrebel getan hat.

2) Swellengrebel gibt an, daß sich die von ihm für Kerne gehaltenen Körner chemisch von den Fett- und Volutinkörnern unterscheiden, daß sie aber die Reaktionen des Chromatins geben. Auch diese Gründe erbringen weder allein noch in Verbindung mit den übrigen einen Beweis für die Kernnatur dieser Körner, denn es unterscheiden sich z. B. auch die Chromidien der Protozoen von den Fett- und anderen Körnern, welche in den Bacillen enthalten sind, und geben auch die Chromatinreaktionen und trotzdem sind sie doch keine Kerne; den Kern kann man nicht nach den von Swellengrebel angeführten Merkmalen diagnostizieren, sondern nur nach dem morphologischen Bau und seiner bezeichnenden physiologischen Funktion.

Obwohl Swellengrebel negiert, daß die von ihm als Kerne gedeuteten Granula mit der Scheidewandbildung zusammenhingen, so drängte sich doch bei dem genauen Studium der seinen Erörterungen beigeschlossenen Bilder der Gedanke vor, daß dies trotzdem der Fall sein könnte. Es ergibt sich nämlich aus denselben, daß jene Granula keineswegs konstante Gebilde, sondern durch andere, welche Netzwerken und Scheidewänden auf das Haar gleichen, ersetzt werden können. Wäre es nicht möglich, daß es sich dabei ähnlich wie auch öfter bei Bac. nitri um eine so rasche Teilung der Individuen handelt, daß die Tochterindividuen noch nicht Zeit hatten, sich voneinander zu trennen und schon in eine neuerliche Teilung treten?

Auf den Umstand, daß jedes Tochterindividuum 2 Chromatinkörner enthält, würde ich kein so großes Gewicht legen, das ist von vielen Bakterien bekannt, muß aber keineswegs als Beweis der Doppelkernigkeit angesehen werden. Uebrigens möchte ich hervorheben, daß sich meiner Ansicht nach zur Entscheidung der Frage des Bakterienkernes nur sporenbildende Bakterien eignen, da allein bei diesen durch die Sporenbildung die Erledigung der Frage nach dem Ursprung des Bakterienchromatins, durch welches allein eine Erledigung der Kernfrage möglich ist, wie Růžička gezeigt hat, ermöglicht wird.

An dieser Stelle sei auch Zettnow (62) erwähnt, welcher auf Grund der Fähigkeit der Bakterien sich in verschiedenen Partieen ihres Inhalts bei der Tinktion nach **Romanowsky** different zu färben, zur Ansicht gelangt, daß die Bakterien Kerne enthalten, und zwar hält er die sich rot (mit Methylenazur) färbenden Teile für Chromatin, weil sich dasselbe nach dieser Methode bei den Amöben und Flagellaten genau so färbt. Da sich bei diesen Organismen also die Kerne färben, meint **Zettnow**, daß auch die roten Partieen im Bakterieninhalte Kerne sein müssen. Diese Kernsubstanz kann aber bei einigen Bakterien den ganzen Inhalt einnehmen und dann entspricht ein solches Bakterium, wie **Zettnow** selbst glaubt, im ganzen dem Kerne, wodurch sich **Zettnow** schon der Ansicht derjenigen anschließt, welche die Bakterien für ein Analogon der Zellkerne auffassen.

In einer späteren Arbeit führt aber **Zettnow** aus, daß die Bakterien echte Zellen sind. Er steht daselbst auf dem Standpunkte, den **Bütschli** schon im Jahre 1890 verteidigt hat. Wie bekannt, repräsentiert nach dieser Ansicht der Bakterienkörper den Zentralkörperkern, das Cytoplasma wird von einer schmalen, peripheren Zone dargestellt, welche sich bei den kleinen Bakterien, d. h. gerade bei dem größten Teile der Bakterien, auf die Hülle reduziert.

Wie **Hamm** (23) aufmerksam gemacht hat, ist aber diese Hülle prinzipiell mit der Kapsel identisch. Die Kapsel repräsentiert eine angeschwollene Hülle. Was aber die Natur dieser Hülle anbelangt, so habe ich schon früher gezeigt, daß ihr chemischer Charakter, soweit chemische Analysen vorliegen, mit dem Charakter des Protoplasmas nicht übereinstimmt.

Mühlschlegel (42) und **Huss** (26) setzen gleichfalls bei den Bakterien einen Kern voraus. Dieses aprioristische Verhalten ist völlig unwissenschaftlich, da ein direkter Beweis nicht vorliegt und Schlüsse per analogiam unstatthaft sind.

Besonders was die Hypothese von **Huss** (26) bezüglich der Notwendigkeit eines Kernes anbelangt, kann ich den Zusammenhang zwischen seiner Prämisse und Konklusion nicht auffinden. Er sagt nämlich: „Meines Erachtens sollte die Tatsache, daß eine große Anzahl der Bakterien Sporen bildet .... ein genügender Beweis dafür sein, daß wir es bei den Bakterien nicht mit Kernhomologa zu tun haben, sondern mit Zellen, denen die Fähigkeit nicht zukommt, einen den höher organisierten Pflanzen ähnlichen Kern zu bilden. Denn bis jetzt ist kein Fall, wo der Kern einer Zelle Sporen hervorbrachte, bekannt“ (26, p. 66).

Der Umstand, daß die Sporen der höheren Pflanzen aus dem Cytoplasma der echten Zellen entstehen, kann doch auf keinerlei Weise ein Beweis dafür sein, daß die Bakterien einen Kern besitzen, da gerade jene Organismen Zellorganismen sind und die Entstehung der Sporen aus einer Partie der Zelle kann eine bloße Akkommodation sein; übrigens ist doch absolut unbewiesen, daß die Sporen dieser höheren Pflanzen ohne irgendwelche Mitwirkung des Kernes entstehen würden. Es ist wiederum zu bemerken, daß man, wie **Růžička** gezeigt hat, gewöhnlich vergißt, daß das Cytoplasma und der Kern eine prinzipiell identische Zusammensetzung haben, aus Chromatin und Plastin nämlich, und daß sich auch die Bakterien aus diesen beiden zusammensetzen, daß auch die Bakterienspore aus den beiden entsteht, wie ja auch die Spore höherer Pflanzen aus beiden zusammengesetzt ist, so daß zwischen der Sporenbildung bei den Bakterien und höheren Pflanzen kein derart prinzipieller Unterschied besteht, wie ihn **Huss** vorauszusetzen geneigt scheint, der

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zu dem Schlusse zwingen würde, daß die Bakterien, weil sie Sporen bilden, auch den Bau von Zellen haben müssen.

Eine andere Forschungsrichtung, welche die Bakterien als ein Analogon der Zellkerne ansieht, wurde von Hueppe (25), Klebs (28) und früher auch von Zettnow (62) verteidigt; diese Autoren haben aber auf die Kernnatur der Bakterien bloß aus der Eigenschaft der Bakterien, sich mit den sogenannten spezifischen Kernfarbstoffen zu tingieren, geschlossen.

Bütschli (9), der behauptete, daß die kleinsten Bakterien bloß aus dem Zentralkörper bestehen, diesen Körper aber für ein Analogon des Kernes hielt, war dennoch entfernt, eine Analogie der Bakterien mit dem Zellkern anzuerkennen, weil er glaubte, die zarte Hülle dieser Bakterien als Cytoplasma auffassen zu müssen. Da diese Ansicht aber durch keinerlei Tatsachen gestützt ist, sondern nur durch den Zwang der Zelltheorie entstanden ist, so enthält die Lehre Bütschlis den Kern der richtigen Auffassung .an Bakterien: Sie entsprechen in toto dem Zentralkörper, der ein Analogon des Zellkernes ist.

Dieser Ansicht über die Kernnatur der Bakterien hat sich auf Grund seiner mikrochemischen Reaktionen und biologischen Studien Růžička angeschlossen.

Meine Beobachtungen bringen mich logischerweise dahin, dieser Ansicht auch bezüglich meines Objektes zuzustimmen.

Die Gründe Růžičkas, sowie warum auch ich mich dieser Ansicht anschließe, werde ich zum Schlusse dieses Abschnittes darlegen.

Es wurde noch eine Hypothese aufgestellt, welche ein Kompromiß zwischen den beiden vorhergehenden vermitteln will, die nämlich, daß die Bakterien beide Hauptelemente der Zelle, d. h. das Proto- und Karyoplasma, noch nicht voneinander differenziert, also in einer engen Vermischung enthalten.

Diese Ansicht hat Weigert (60) geäußert und wurde von Mitrophanow (41) und neuerdings auch Gotschlich (19) verteidigt, der behauptet, daß ....„die Kernsubstanz bei den Bakterien vom Plasma nur erst chemisch, noch nicht aber (wenigstens in der Mehrzahl der Fälle) morphologisch in Form eines distinkten Kernes differenziert ist, sondern meist mit dem „Entoplasma“ innig vermischt den durch die gewöhnlichen Färbungsmethoden darstellbaren Bakterienleib bildet, während das „Ektoplasma“ erst nach besonderer Vorbehandlung (Beizung) sichtbar wird“ (Handbuch d. pathog. Mikroorganismen von Kolle und Wassermann, II. Ergbd., 1. Heft, p. 5).

Es ist nötig, auch die Ansichten von Marx und Woithe (35) zu erwähnen, obwohl sie uns in der Kernfrage bei den Bakterien keine feste Basis bieten, nachdem ihre Ausführungen nicht so präzis sind, daß man sich eine klare Vorstellung davon machen könnte, was die Autoren eigentlich gemeint haben. Mit Hilfe der Vorfärbung mittels Loefflerschen oder Neisserschen Methylenblaus und Nachfärbung mit Neisserschem Wasservesuvin färbten diese Autoren in ihren Präparaten bei Kokken, Sarcinen, Bakterien blaue Körnchen, die sie für Babes-Ernstsche Körnchen erklären, der übrige Bakterieninhalt erschien gelbbraun gefärbt. Marx und Woithe meinen, daß diese Körnchen keine echten Kerne, sondern Centrosomenhomologa sind, da sie bipolar gelagert erscheinen und sich an der Bakterienteilung in ähnlicher Weise wie die Centrosomen beteiligen sollen.

Auf Grund dieser Anschauungen könnte man die Bakterien auf zweierlei Weise auffassen. Einmal wäre der ganze Körper des Bakteriums selbst ein Kern; infolgedessen müßten wir die Membran als jene periphere Plasmapartie oder den Zelleib auffassen, von welcher Marx und Woithe sprechen, kämen somit auf die Ansicht Bütschlis zurück. In diesem Falle gilt aber dasjenige, was ich oben über die Ansichten Löwits, Bonis und Bütschlis gesagt habe.

Ein andermal wäre die periphere Partie des Bakterienleibes gleich unter der Membran der Zellleib; doch ist diese in Wirklichkeit eine direkte Fortsetzung der zentralen Partie, welche Marx und Woithe für den Kern halten.

Was weiter die Homologisierung der von den Autoren beobachteten Körner mit den Centrosomen anbetrifft, so entspricht einerseits ihre Beteiligung an der Bakterienteilung wegen Mangel an Kern und Strahlen absolut nicht dem Begriff der Centrosomen, andererseits übergehen die Autoren mit Schweigen diejenigen Bakterien, welche zwischen jenen polaren Körnern noch eine ganze Reihe analoger Körner besitzen (l. c. Fig. 4b, 5a, 7, 8, 12, 14).

Wie aber ersichtlich, es entschließen sich Marx und Woithe weder für noch gegen die Zell- oder Kerntheorie.

Aehnliches tut auch Guilliermond, welcher am Schlusse seiner Arbeit sagt, daß allem Anscheine nach bei den Bakterien weder ein echter Kern, noch ein Zentralkörper, noch ein Chromidialnetz, noch Swellengrebels Spiralfaden existiert. Aus dem Vorkommen der sich distinkt, und zwar analog dem Chromatin färbenden Granula im Bakterienleib, und weiterhin daraus, daß die Existenz des Kernes für das Zellenleben notwendig erscheint und bei einigen Protozoen die Kernsubstanz mehr oder weniger mit dem Cytoplasma „vermischt“ gefunden wurde (Chromidialtheorie), stellt sich Guilliermond die Frage, ob die im Bakteriencytoplasma zerstreuten Chromatingranula nicht einen diffusen Kern oder ein Chromidialsystem repräsentieren. Allerdings meint er, daß man diese Ansicht nicht definitiv aufstellen kann, nur mit einer gewissen Reserve, als eine bloße Hypothese.

Andere Forscher nehmen aber die Gegenwart des Kernes in Form eines Chromidialsystems als Behauptung hin.

Diesen Gedanken hat R. Hertwig ohne eigene Untersuchungen bloß theoretisch ausgesprochen.

Von den übrigen Forschern, welche diese Theorie Hertwigs auch praktisch zur Aufklärung der streitigen Kernfrage bei den Bakterien auszunützen versucht haben — es sind dies hauptsächlich die Schüler Hertwigs — ist Schaudinn anzuführen, der zwar direkt die Existenz eines Chromidialnetzes im Bakterienkörper nicht ausgesprochen hat, sondern bloß sagt, daß die Kernsubstanzen, welche während des größeren Teiles des Bakterienlebens in ihrem Körper diffus im ganzen Protoplasma verteilt sind, bei der Sporenbildung aber zu einem mit den Kernen der höheren Organismen vergleichbaren Gebilde zusammentreten.

Swellengrebel (56a) hat beim Bac. maximus buccalis eine peripher gelagerte Spirale mit rot nach Romanowsky tingierten Chromatinkörnchen beschrieben. Dieses Spiralband hält Swellengrebel für homolog mit den Kernen der höheren Organismen: 1) weil es keine Reaktionen der Bakterienreserveprodukte zeigt; 2) weil man es in jeder Zelle nachweisen kann; 3) weil es sich in seinem chemischen Verhalten den Nukleinkörpern nähert; 4) weil es zu jeder Zeit herausdifferenziert werden kann; 5) wegen des eigentümlichen Teilungsmodus. Dieser Apparat wird von einem spiralen Chromatinband (-faden) gebildet, welches im Ruhestadium homogen erscheint und sich vor der Teilung in achromatische Querfäden und Chromatinkörner differenziert. Swellengrebel hält diese Spirale mit den Chromatinkörnchen dem Chromidialsystem analog, wie aus seinen Worten (l. c. p. 678) erhellt: „Alles in allem möchte ich die Kernspirale des Bac. maximus buccalis unter die Gruppe der „diffusen Kerne“ unterbringen, mit der Bemerkung, daß hier ein diffuser Kern mit mitotischer Teilung vorliegt, indem die bis jetzt beschriebenen diffusen Kerne alle amitotische Teilung aufweisen“, und ein Stückchen weiter: „Die Körnchen sind als Chromidien aufzufassen“ ....

Auch Guilliermond steht einer ähnlichen Auffassung nicht sehr ferne, obwohl sein Standpunkt sonst unentschieden ist.

Die Frage der Existenz eines Chromidialnetzes bei den Bakterien werde ich zum Schlusse dieses Kapitels gelegentlich der Vergleichung der Ansichten anderer Forscher mit der Ansicht von Růžička und mir behandeln.

Vergleiche ich die Ansichten der oben zitierten Autoren mit meinen Befunden am Bac. nitri, so habe ich das Folgende zu konstatieren.

Es ist offenbar, daß bei Beurteilung der Strukturen des Bac. nitri in bezug auf die Zellentheorie der Bakterien alle jenen bisher genannten und von verschiedenen Autoren für Kerne gehaltenen endobacillären Formationen zu streichen sind, da sie, wie oben gezeigt, größtenteils entweder auf die im Bakterienleibe zerstreuten Chromatingranula oder auf die Körper Bunges und Krompechers, welche der Eigenschaften eines echten Kernes entbehren, zurückgeführt werden können.

Bevor ich mich über die cytologische Natur des Bac. nitri ausspreche, möchte ich mir einige Worte über die Zelle überhaupt und speziell über den Kern erlauben[1]). In der typisch ausgebildeten Zelle sind zwei morphologisch voneinander unterschiedene Elemente — das Cytoplasma (der Zelleib) und der Kern (bezw. noch Nucleolus) — differenziert. Diese morphologischen Zellelemente sind aber in Wirklichkeit morphochemisch nicht gegensätzlich voneinander verschieden, weil die chemisch ausgeprägten und voneinander verschiedenen zwei, die Zelle zusammensetzenden Substanzgruppen (das Chromatin und das Plastin nämlich) in der ganzen Zelle ausgebreitet, und soweit wir konstatieren können, in diesen morphologischen Elementen nur quantitativ ungleich verteilt sind. So enthält z. B. das Cytoplasma eventuell etwas Chromatin in Form von isolierten Granulationen oder Netzwerk (Chromidien), im Kerne dagegen liegt das Chromatin, besonders zu gewissen Lebensperioden, in großer Menge aufgestapelt. In beiden Fällen ist das Chromatin in einer Plastingrundsubstanz gelegen. Doch ist das Verhältnis der beiden Substanzen, wie Růžička zeigte, nicht stabil (konstant), sondern sind beide auf Grund jeweiliger Stoffwechselvorgänge mit der Fähigkeit, ineinander überzugehen, begabt. Diese Schwankung im gegenseitigen Verhältnis des Chromatins und Plastins läßt sich nicht nur bei echten Zellen, sondern völlig analog auch bei den Bakterien konstatieren, und zwar nicht nur morphologisch, sondern auch chemisch.

---

[1]) Ich folge hier hauptsächlich den von Růžička a. a. C. entwickelten und begründeten Anschauungen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Im ganzen unterscheidet sich die Anordnung des Chromatins und Plastins im ruhenden vegetativen Individuum des Bac. nitri auf keine Weise von der Anordnung dieser beiden Substanzen im ruhenden Zellkerne.

Bei der großen Differenz der Ansichten, welche über die biologische Natur der Bakterien herrscht, welche durch weitere morphologische Forschungen auszugleichen kaum mehr Hoffnung vorhanden wäre, muß der Versuch Růžičkas auf mikrochemischem Wege die Natur der Bakterien zu analysieren, gewiß als berechtigt erscheinen. Solchermaßen stellte Růžička fest, daß die Bakterien einerseits auch nach lange andauernder Verdauung mit künstlichem Magensaft unverändert bleiben, andererseits, daß sie in chromatinlösenden Stoffen ihr Chromatin einbüßen, daß sie also aus Chromatin und Plastin zusammengesetzt sind, kurz, daß sie dieselbe morphochemische Zusammensetzung aufweisen, wie die Zellkerne, zu welcher Uebereinstimmung auch die von ihm im morphologischen Baue, d. h. in der gegenseitigen Lagerung der beiden mikrochemisch nachweisbaren Substanzen, konstatierte Uebereinstimmung, hinzukommt.

Versuche, die ich sowohl mit dem Magensafte, als auch mit KOH und anderen chromatinolytischen Stoffen an dem Bac. nitri angestellt habe, bestätigen völlig die Angaben Růžičkas, mit welchen ja auch die Resultate Swellengrebels am Bac. maximus buccalis übereinstimmen.

Auch Bac. nitri besteht aus einer Plastingrundsubstanz, in welche von Chromatin überzogene Plastinkörner in schwankender Zahl und Anordnung gelagert sind. Diese verschiedenen Strukturen beschrieb ich schon oben.

Aus dem, was in den vorhergehenden Kapiteln gesagt worden ist, geht hervor, daß es auch mir beim Bac. nitri, ähnlich wie auch Růžička und Guilliermond bei anderen Bakterien nicht gelungen ist, irgendwelche Kerne aufzufinden, obwohl ich mich aller üblichen Methoden zu deren Nachweise bedient habe. Der Einwand, man könne den Kern wegen seiner kleinen Dimensionen nicht konstatieren, fällt schon deswegen weg, weil das Objekt meiner Untersuchungen ein Bacillus von großen Dimensionen gebildet hat, wie aus dem Vorausgegangenen ersichtlich, so daß ein typisch ausgebildeter Kern, wenn er in Wirklichkeit existierte, bei den von mir angewendeten Kautelen und Methoden gewiß der Beobachtung nicht hätte entgehen können.

Bezüglich der Existenz eines Chromidialsystems bei den Bakterien stimme ich den Ausführungen Růžičkas[1]) bei, durch welche die Theorie eines Chromidialsystems bei den Bakterien ad absurdum geführt wird.

Ich finde keinen Grund zur Interpretation der Strukturen des Bac. nitri im Sinne der Chromidialtheorie, da die Sporenanlage, welche man für ein Analogon des sekundären, bei den Protisten aus dem Chromidialnetze entstandenen Kernes erklären könnte, kein solches Analogon ist, wie Růžička nachgewiesen hat.

Daß die Bakterien keine kernlosen Zellen sind, wies ebenfalls mikrochemisch Růžička nach, indem er konstatierte, daß sich an dem Baue des Bakterienkörpers die den Kernen eigenen Substanzen in der eben einem Kern entsprechenden Form beteiligen.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 23. 1909. No. 10/12.

Wie ich schon erwähnt habe, gilt dasselbe Zusammensetzungsprinzip auch für den Bac. nitri.

Wie ich jetzt alles, was bisher angeführt ist, zusammenfasse, so scheint es mir am wenigsten gezwungen zu sein, anzuerkennen, daß der Bac. nitri, indem er eines Zentralkörpers, eines ausgebildeten echten Kernes entbehrt, und auch kein echtes Cytoplasma besitzt, des weiteren ein Gebilde ist, das, wie oben gezeigt, nichts Gemeinsames mit dem Chromidialsystem hat, am besten als ein relativ einfacher gebautes Gebilde, als eine Cytode im Sinne Haeckels und gleichzeitig als ein in seinem Ganzen dem Zellkerne analoges Gebilde aufzufassen ist, wie es auch **Růžička** ausgesprochen hat.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. Gustav Kabrhel für die Erlaubnis, diese Arbeit im Hygienischen Institute ausführen zu dürfen, sowie Herrn Privatdozenten Dr. Vladislav **Růžička** für das Interesse, mit dem er den Fortschritt derselben verfolgt hat, meinen innigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Amato, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1908.
2) Ascoli, a) Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 20.
—, b) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 30. 1901.
3) Babes, a) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1889.
—, b) ibid. Bd. 20. 1895.
4) de Bary, Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1887.
5) Boni, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 28. 1900.
6) Brefeld, Botanische Studien über Schimmelpilze. Bd. 4. 1881.
7) Bunge, a) Fortschr. d. Mediz. Bd. 12. 1894. No. 14.
—, b) ibid. Bd. 12. 1894. No. 24.
—, c) ibid. Bd. 13. 1895. No. 20.
8) Burchard, Arb. a. d. bakt. Inst. zu Karlsruhe. Bd. 2. 1897. No. 1.
9) Bütschli, Ueber den Bau der Bakterien. Leipzig 1890.
10) Catterina, Ric. sull' intima strutt. delle spore dei batteri. (Atti d. Soc. veneto-trent. T. 3. 1898.)
11) Dietrich-Liebermeister, Centralbl. f. Bak. etc. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.
12) Eisenberg, ibid. Abt. I. Bd. 45. 1908.
13) Ernst, a) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888.
—, b) ibid. Bd. 10. 1889.
—, c) Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 8. 1902.
14) Fedorowitsch, ibid. Abt. II. Bd. 8. 1902.
15) Feinberg, ibid. Abt. I. Bd. 27. 1900.
16) Fischer, Untersuchungen über den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897.
17) Fränkel, Grundriß der Bakterienkunde. Berlin 1891.
18) Frenzel, a) Biol. Centralbl. Bd. 11. 1891.
—, b) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892.
19) Gotschlich, a) Handbuch d. pathog. Mikroorganismen. Bd. 1. Jena 1903.
—, b) ibid. II. Erg.-Bd. Heft 1. Nachtrag. Jena 1907.
20) Grimme, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 32. 1902.
21) Guilliermond, a) Sur la présence des corpuscules metachromatiques dans les bactéries. (Extr. du Lyon médical. 1902. No. du 13 juillet.)
—, b) Contribution à l'étude cytologique des bacilles endosporès. (Arch. f. Protistenk. Bd. 12. 1908. Heft 1.)
22) Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 5. Aufl. Leipzig (Thieme) 1898.
23) Hamm, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1907.
24) Hölling, ibid. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1907.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

25) **Hueppe**, a) Die Formen der Bakterien und ihre Beziehungen zu den Gattungen und Arten. 1886.
—, b) Die Methoden der Bakterienforschung. Wiesbaden 1891.
26) **Huss**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 19. 1907.
27) **Ilkewicz**, ibid. Bd. 15. 1894.
28) **Klebs**, Die allgemeine Pathologie. Teil 1. 1887.
29) **Klein**, a) Ueber einen neuen Typus der Sporenbildung bei den endosporen Bakterien. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. 7. 1889.)
—, b) Botanische Bakterienstudien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889.)
30) **Klett**, Beiträge zur Morphologie des Milzbrandbacillus. [Inaug.-Dissert.] Karlsruhe 1894.
31) **Koch**, Ueber Morphologie und Entwickelungsgeschichte einiger endosporer Bakterienformen. (Botan. Ztg. 1888. No. 18.)
32) **Krompecher**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 30. 1901.
33) **Löwit**, ibid. Bd. 19. 1896.
34) **Marpmann**, ibid. Abt. II. Bd. 9. 1902.
35) **Marx** und **Woithe**, ibid. Abt. I. Bd. 28. 1900.
36) **Massart**, Sur le protoplasme des Schizophytes. (Recueil de l'Instit. bot. Errera Bruxelles 1902.)
37) **Matzuschita**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 9. 1902.
38) **Mencl**, a) ibid. Bd. 12. 1904.
—, b) ibid. Bd. 15. 1905.
—, c) Arch. f. Protistenk. Bd. 8. 1907.
39) **Meyer**, A., a) Flora. Bd. 84. 1897.
—, b) ibid. Bd. 86. 1899.
—, c) ibid. Bd. 95. 1908.
40) **Migula**, a) Ueber den Zellinhalt von Bacillus oxalaticus Zopf. Karlsruhe 1894.
—, b) System der Bakterien. Jena 1897.
—, c) Schizomycetes. (**Engler-Prantls** Pflanzenfamilien. Teil I. Abt. I.)
—, d) Flora. Bd. 85. 1898.
41) **Mitrophanow**, Biolog. Centralbl. Bd. 9. 1889.
42) **Mühlschlegel**, a) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 15. 1899.
—, b) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 6. 1900.
43) **Nakanishi**, ibid. Abt. I. Bd. 30. 1901.
44) **Neisser**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1888.
45) **Ottolenghi**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904.
46) **Peters**, Die Organismen des Sauerteigs usw. (Botan. Ztg. 1889.)
47) **Pieczenko**, O budowie i rozwojn Bacillopsis stylopygae. Kraków 1908.
48) **Pražmowski**, Untersuchungen über die Entwickelungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig 1880.
49) **Preiz**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904.
50) **Raýmann a Kruis**, Chemicko-biologiché studie. Část III. (Rezpr. čes Akad. R. 12. Tř. II č 31.)
51) **Růžička**, Vlad., a) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 23. 1898.
—, b) Arch. f. Hyg. Bd. 47. 1903.
—, c) ibid. Bd. 51. 1907.
—, d) Arch. f. Protistenk. Bd. 10. 1907.
—, Naturwissensch. Wochenschr. Jg. 23. 1908. Heft 6.
—, Struktur und Plasma. Wiesbaden (Bergmann) 1908.
—, Cytologie der sporenbildenden Bakterien und die Chromidialtheorie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 27. 1909. No. 11/12.)
52) **Schaudinn**, a) Arch. f. Protistenk. Bd. 1. 1902.
—, b) ibid. Bd. 2. 1903.
53) **Schottelius**, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 4. 1888.
54) **Schumburg**, ibid. Abt. I. Bd. 31. 1902.
55) **Sjöbring**, ibid. Bd. 11. 1892.
56) **Swellengrebel**, a) ibid. Abt. II. Bd. 16. 1906.
—, b) ibid. Bd. 19. 1907.
57) **Trambusti** et **Galeotti**, ibid. Bd. 11. 1892.
58) **Vejdovský**, a) ibid. Bd. 6. 1900.
—, b) Extr. d. Compt. rend. du 6ᵉ Congrès internat. de Zoologie. Session de Berne. 1904.
—, c) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. 11. 1904.
59) **Wagner**, ibid. Abt. I. Bd. 23. 1898.
60) **Weigert**, Neue Vererbungstheorie. (**Schmidts** Jahrbücher. 887.)

61) **Wahrlich**, Bakteriolog. Studien. (Scripta horti botan. St. Petersburg 1890/91.)
62) **Zettnow**, a) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 10. 1891.
—, b) ibid. Bd. 19. 1896.
—, c) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 24. 1897.
—, d) ibid. Bd. 30. 1899.
—, e) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 27. 1900.
63) **Ziemann**, ibid. Bd. 24. 1898.
64) **Zopf**, Die Spaltpilze. 1885.
65) **Zukal**, Ueber den Zellinhalt der Schizophyten. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. 10. 1892.)

Nachdruck verboten.

Versuche über Infektionserleichterung durch Diphtherievergiftung.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität Prag. Vorstand: Prof. Hueppe.]

Von Professor Dr. **Oskar Bail.**

Gelegentlich der Debatten über die Natur der Bakterienaggressivität wurden hauptsächlich zwei Momente zur Erklärung der infektionsbefördernden Wirkung sterilisierter Exsudate angeführt. Zunächst die Wirkung gelöster Bakteriensubstanzen, welche hauptsächlich durch Bindung bakteriolytischer Schutzkräfte die Infektion erleichtern; als Hauptvertreter dieser Ansicht sind Wassermann und Citron zu nennen. Dann aber sollte auch eine Vergiftung des Tieres nicht spezifischer Art zu einer gesteigerten Wachstumsmöglichkeit der Bakterien im vergifteten Organismus führen. Namentlich Kraus und Dörr, sowie Dörr vertreten diese Anschauung, soweit sie nicht ebenfalls gelöste Bakteriensubstanzen für die aggressiven Effekte von Exsudaten verantwortlich machen.

Dörr[1]) machte unter anderem die Angabe, daß Diphtherietoxin imstande sei, eine sonst nicht tödliche Bakterieninfektion zu einer tödlichen zu machen. Angesichts sehr zahlreicher Versuche, welche G. Salus mit Diphtheriebacillen ausgeführt hatte, schien diese Angabe von vornherein unwahrscheinlich. Es ließ sich zeigen, daß man zwar Tiere mit Diphtheriebacillen töten kann, daß diese sich aber dabei nicht deutlich vermehren. Gelingt es, von derartigen Tieren Exsudate zu erhalten, so sind sie zwar in mehr oder minder hohem Grade giftig, aber niemals aggressiv, d. h. sie vermögen nicht, gleichzeitig injizierte lebende Diphtheriebacillen zur Vermehrung anzuregen[2]).

Wenn nun ein echtes bakterielles Toxin, wie das des Diphtheriebacillus, die zugehörigen Mikroorganismen zu einem Wachstum im Tiere nicht befähigt, so ist damit über seine Aggressivität im negativen Sinne vollständig entschieden, und es stehen eben Vergiftung und Bakterienwachstum in keinem Zusammenhange.

Dörr vergiftete Tiere mit Toxin, injizierte gleichzeitig Dysenteriebacillen oder Staphylokokken[3]), und fand Wachstumsbegünstigung. Diese Versuche wurden im Zusammenhange mit den sonstigen Versuchen über Aggressinwirkung nachgeprüft, ergaben aber ein so vollständig einwands-

---

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 25. — Dieses Centralbl. Referate. Bd. 28. 1906. Beiheft p. 14. — Ibid. Orig. Bd. 41. 1906. p. 497 ff.

[2]) Arch. f. Hygiene. 1903. Bd. 60. p. 312.

[3]) a. a. O. p. 598 und 600. 8. und 20. Versuch.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

frei negatives Ergebnis, daß den Resultaten Dörrs eine weitere Bedeutung in keiner Weise mehr beigelegt werden kann. Daß die Veröffentlichung jetzt erfolgt und nicht im Zusammenhange mit anderen Versuchen, wie ursprünglich geplant, hat seinen Grund darin, daß Bürgers und Hösch[1]) ihre Ergebnisse mit der Anwendung nicht bakterieller Vergiftungen (Alkohol, Opium, Krotonöl, Milchsäure) veröffentlicht haben und dabei ebenfalls keine Infektionsbegünstigung feststellen konnten.

Das zu den eigenen Versuchen benützte Diphtherietoxin war recht wirksam: 0,005 ccm töteten Meerschweinchen bei subkutaner Injektion sicher nach mehreren Tagen. In die folgende Mitteilung sind nur Versuche aufgenommen, bei denen tödliche Dosen von Diphtherietoxinen zur Anwendung kamen, zunächst für den giftliefernden Stamm von Diphtheriebacillen selbst. Alle verwendeten Meerschweinchen wogen ca. 200 g.

Meerschweinchen 1 erhält 1 Oese Diphtherieserumkultur in 1 ccm NaCl-Lösung intrap. Die sofort vorgenommene Kapillarentnahme liefert massenhaft Diphtheriebacillen, spärliche Leukocyten, von denen einige bereits Phagocytose zeigen. Nach $^1/_2$ und 1 Stunde ist bereits der größere Teil der Bacillen verschwunden. Die vorhandenen Leukocyten zeigen reichlich Phagocytose. Von jetzt an strömen reichlich Leukocyten in die Bauchhöhle, während freie Bacillen nur höchst selten nach 2 Stunden zu finden sind. Nach 22 Stunden enthält das stark eiterige Exsudat weder Bacillen noch Phagocytosen. Das Tier magert ab, überlebt aber.

Meerschweinchen 2 erhält die gleiche Menge Diphtheriebacillen mit 0,1 ccm Diphtherietoxin intrap. Der Befund bei der Kapillarentnahme ist der gleiche wie bei No. 1. Nach 22 Stunden ist das Tier schwer krank. Das Exsudat ist dünneiterig, enthält aber deutlich weniger Leukocyten als bei No. 1. Es sind weder Bacillen noch Phagocytosen zu finden. Der in der Nacht eingetretene Tod bot das typische Bild der Diphtherievergiftung. Bacillen waren nicht zu finden, nur in dem Eiter vom Netz fanden sich sehr spärliche Phagocytosen blasser Bacillen. Kulturen aus dem Exsudate auf Löfflerserum blieben steril.

Meerschweinchen 3 erhielt zunächst 0,005 ccm Diphtherietoxin subkutan und 22 Stunden später $1^1/_2$ Oese Diphtheriebacillen intrap. An der Injektionsstelle der Kultur hatte sich ein starkes Infiltrat ausgebildet. Die anfangs massenhaft in der Bauchhöhle vorhandenen Bacillen verminderten sich schon nach $^1/_2$ Stunde und waren nach 2 Stunden bei reichlichem Zufluß von Leukocyten und Phagocytose nur noch ganz vereinzelt zu finden. Nach weiteren 24 Stunden reichte das Infiltrat von der Achselhöhle bis zum Bauch herunter; das Exsudat war dickeiterig und zeigte weder Bacillen noch Phagocytose. Der Tod mit dem typischen Toxinbefunde trat in der Nacht des 4. Tages ein. Bacillen waren nicht nachzuweisen.

Meerschweinchen 4 wurde genau wie 3, aber unter Anwendung von 0,05 ccm Diphtherietoxin geimpft. Der Verlauf, das relativ rasche Verschwinden der Bacillen war wie bei No. 3. Der Tod trat nach weniger als 48 Stunden ein. In dem sehr dicken, eiterigen Peritonealexsudate fanden sich weder Phagocytosen, noch freie Bacillen. Eiterklümpchen am Netz zeigten noch spärlich Phagocytosen und sehr selten kleine Klümpchen von Bacillen, von denen es zweifelhaft blieb, ob es sich um ausgestrichene Phagocytosen oder um freigebliebene Bacillen handle.

Meerschweinchen 5 erhält 0,005 ccm Diphtherietoxin intraperitoneal und 13 Stunden später $1^1/_2$ Oese Diphtheriekultur ebenfalls intrap. Die sofortige Entnahme liefert ein trüb-eiteriges Exsudat, dessen Zellen schon hier und da Phagocytose zeigen. Es enthält massenhaft Diphtheriebacillen, meist in kleinen Häufchen. $^1/_2$ Stunde später ist die Zahl der Leukocyten bei reichlicher Phagocytose stark gesunken; die Zahl der freien Bacillen hat sich stark vermindert. Nach 1 Stunde steigt die Zahl der Leukocyten wieder an, Phagocytose vorhanden, Bacillen nur noch hier und da in kleinen Häufchen. Nach $2^1/_2$ Stunden kann in dem eiterigen Exsudate noch hier und da Phagocytose gefunden werden; freie Bacillen sind nicht mehr vorhanden. Der Tod tritt in der Nacht des 3. Tages ein, mit allen Zeichen der Toxinwirkung. Im Peritoneum finden sich wenig eiterige Beläge, ohne Phagocytose, ohne Bacillen.

Meerschweinchen 6 wurde ganz wie No. 5, aber unter Anwendung der 10-fachen Toxindosis (0,05 ccm) geimpft. Die sofortige Entnahme lieferte ein deutlich leukocytenärmeres Exsudat als bei No. 5. Der Verlauf des Versuches ist genau der gleiche. Der Toxintod erfolgte in der Nacht des 2. Tages. Peritoneum fleckweise ganz schwarz von Hämorrhagieen. In dem eiterigen Exsudat finden sich weder Phagocytosen noch Bacillen. Aus dem Eiter am Netze konnte noch eine Diphtheriekolonie gezüchtet werden.

---

[1]) Zeitschr. f. Immunitätsforschung. 1909. Bd. 2. No. 1.

Die Versuche zeigen auf das Unzweifelhafteste, daß selbst vielfach tödliche Mengen von Diphtherietoxin ein Haften und eine Vermehrung der zugehörigen Bacillen nicht herbeiführen können. Das ist selbst dann nicht der Fall, wenn die Tiere unter dem Einflusse unbedingt tödlicher Vergiftung seit Stunden stehen. Damit ist ganz sicher bewiesen, daß dem Diphtheriegift jeglicher aggressive Charakter vollständig fehlt, und daß Toxizität und Aggressivität zwei vollkommen verschiedene Dinge sind.

Es ist bereits oben bemerkt worden, daß es bisher niemals gelungen ist, im Tierkörper aggressive Flüssigkeiten für den Diphtheriebacillus aufzufinden, was im besten Einklange mit dessen Vermehrungsunfähigkeit steht. Mit seinem Toxin kann er wohl Tiere töten, sich selbst aber trotzdem nicht zur Vermehrung verhelfen. Daraus folgt aber weiter, daß die Diphtherievergiftung eine wesentliche Lähmung jener Körperschutzkräfte, welche auf die Beseitigung von Bakterien hinarbeiten, nicht herbeizuführen vermag.

Eine gewisse Leukocytenverhinderung scheint allerdings im schwer vergifteten Tiere zu bestehen; es wurde wenigstens wiederholt beobachtet, daß Tiere, welche Diphtherietoxin intraperitoneal erhalten hatten, ein etwas leukocytenärmeres Exsudat aufwiesen, als jene, welchen nur Bouillon injiziert worden war. Auf eine negativ chemotaktische Wirkung des Diphtherietoxins wurde ja bereits von mehreren Seiten hingewiesen. Um diese und den mit ihr möglicherweise verbundenen infektionsbefördernden Effekt hervortreten zu lassen, wurde das Gift und nach Stunden die Bakterien intraperitoneal verimpft, aber ohne Erfolg, weil offenbar der Unterschied in der Leukocytenmenge der Gift- und Kontrolltiere viel zu gering war, um eine Veränderung der Resistenz herbeiführen zu können. Im Gegenteil tritt unter solchen Umständen die günstige Wirkung des vorangegangenen peritonealen Eingriffes geradeso hervor, als ob statt der giftigen Diphtheriebouillon gewöhnliche Bouillon injiziert worden wäre.

Das gleiche ist zu erkennen, wenn man den Verlauf einer subletalen Infektion mit fremden Halbparasiten (Cholera, Typhus, Staphylokokken) unter dem Einflusse einer Diphtherievergiftung studiert.

Meerschweinchen 7 erhält $^1/_{10}$ Oese Cholera Pfeiffer in 1 ccm Bouillon intrap. Die sofortige Entnahme liefert spärliche Leukocyten und sehr zahlreiche Vibrionen, deren Zahl sich nach $^1/_2$ Stunde etwas, aber nicht wesentlich vermindert hat. Nach $1^1/_2$ Stunden treten polynukleäre Leukocyten in geringer Zahl, öfters mit Granulaphagocytose auf. Die Vibrionen sind überall zu finden, aber nicht vermehrt. Sie erscheinen dicker zu sein als früher. Nach 3 Stunden verhalten sich die Vibrionen ungefähr ebenso; sie sind nicht vermehrt, aber auch nicht wesentlich vermindert. Zahl der polynukleären Leukocyten sehr groß, oft mit Granulaphagocytose. Nach 23 Stunden enthält die Bauchhöhle Eiter ohne Phagocytose und ohne Vibrionen. Das Tier überlebt.

Meerschweinchen 8 erhält $^1/_{10}$ Oese Cholera Pfeiffer mit 0,075 ccm Diphtherietoxin in 1 ccm Bouillon intrap. Der Verlauf der Infektion ist derselbe wie bei No. 7, nur tritt eine starke Verminderung der freien Vibrionen bereits nach 3 Stunden hervor. Nach 23 Stunden ist das Tier bereits deutlich krank und liefert ein dünneiteriges Exsudat, ohne Phagocytose, ohne Bacillen. Der Tod erfolgt nach weniger als 48 Stunden mit dem typischen Befunde der Diphtherievergiftung. Vibrionen sind nicht mehr aufzufinden.

Meerschweinchen 9 erhält 0,075 ccm Diphtherietoxin und 15 Stunden später $^1/_7$ Oese Cholera Pfeiffer intrap. Das Tier erschien zur Zeit der Cholerainfektion zwar noch nicht deutlich krank, machte aber einen wenig munteren Eindruck. Die sofort nach der Infektion gemachte Kapillarentnahme ergab reichliche polynukleäre Leukocyten und massenhafte Vibrionen. $^1/_2$ Stunde später war die Zahl der Leukocyten stark gesunken. Phagocytose fand sich oft, aber doch viel zu wenig, um die starke

Verminderung der freien Vibrionen zu erklären, die nur noch zerstreut zu finden sind. Freie Granula sind nicht selten. Nach $1^1/_4$ Stunden kehren die Leukocyten in die Bauchhöhle zurück; öfter Granulaphagocytose, häufig freie Granula, selten Vibrionen. Nach $5^3/_4$ Stunden ist das Tier deutlich krank, hat aber nicht die Symptome einer Peritonitis. Das Exsudat ist eiterig, und zeigt weder Phagocytosen noch Granula noch Vibrionen. Nach 9 Stunden wurde im schwerkranken Tiere der gleiche Befund erhoben. Der Tod trat in der Nacht ein. Der Befund war der des Toxintodes. Das eiterige Exsudat enthält mikroskopisch weder Vibrionen noch Reste von solchen, und war auch kulturell steril. Im Eiter des Netzes fanden sich noch Phagocytosen, und Ausstriche auf Agar lieferten 6 Cholerakolonieen.

Meerschweinchen 10 erhielt 1 ccm Bouillon, 15 Stunden später $^1/_8$ Oese Typhus intraperitoneal. Die sofort nach der Injektion gemachte Kapillarentnahme lieferte eiteriges Exsudat und sehr zahlreiche Bacillen. Nach $^1/_2$ Stunde hatte sich die Zahl der Leukocyten stark vermindert, ebenso die Zahl der Bacillen; Phagocytose war öfters zu beobachten. Die Entnahme nach $1^1/_4$ Stunde führte zu einem Anstechen des Darmes, welches aber keine üblen Folgen hatte, da nach $2^1/_2$ Stunden keine fremden Bakterien in die Bauchhöhle ausgetreten waren. Leukocyten waren wieder in der früheren Menge vorhanden, Phagocytosen fanden statt, freie Bacillen waren sehr spärlich. Nach $5^3/_4$ Stunden enthielt das eiterige Exsudat weder Phagocytosen noch freie Bacillen. Das Tier überlebte.

Meerschweinchen 11 erhielt 0,075 ccm Diphtherietoxin in 1 ccm Bouillon und 15 Stunden später $^1/_8$ Oese Typhus intrap. Das Tier zeigte um diese Zeit bereits deutlich eine geringere Munterkeit. Die sofort und $^1/_2$ Stunde nach der Bacilleninjektion gemachten Entnahmen zeigten den gleichen Befund wie bei No. 10. Nach $1^1/_4$ Stunden waren reichlich polynukleäre Leukocyten, oft mit Phagocytose vorhanden, und freie Bacillen ohne Mühe zu finden. Nach $2^1/_2$ Stunden waren wie bei No. 10 freie Bacillen nur noch spärlich vorhanden; die Gesamtzahl der Leukocyten war geringer als bei No. 10. Nach $5^3/_4$ Stunden waren im eiterigen Exsudate weder Phagocyten noch Bacillen mehr zu finden. Das Tier war schwerkrank, zeigte aber nicht die charakteristischen Peritonitissymptome der Endotoxinwirkung. Nach 9 Stunden war das Tier am Vorderteil ganz gelähmt und starb in der Nacht mit den Zeichen des Diphtheriegifttodes. Es fanden sich in der Bauchhöhle ca. 4 ccm rötliches eiteriges Exsudat, ohne Phagocytose und Bacillen. Letztere fehlten auch in Eiterausstrichen des Netzes, in denen noch hier und da Phagocytose zu finden war.

Meerschweinchen 12 erhält 0,075 ccm Diphtherietoxin und $^1/_8$ Oese Typhus in 1 ccm Bouillon intraperitoneal. Bis zur Entnahme nach $1^1/_4$ Stunden sind nur ganz vereinzelte Leukocyten und sehr zahlreiche Bacillen vorhanden. Um diese Zeit treten Leukocyten auf, zeigen auch Phagocytose; die Zahl der freien Bacillen ist eher vermehrt, sicher nicht vermindert. Nach $2^1/_2$ Stunden ist die Zahl der Leukocyten bedeutend gestiegen, aber auch die Bacillen haben sich etwas vermehrt, sie liegen oft in kleinen Häufchen. Nach $5^3/_4$ Stunden zeigt das Tier leichte Peritonitissymptome. Das Exsudat ist dünneiterig, die Leukocyten sind in Menge vorhanden und liegen oft in Klümpchen; Phagocytose ist nicht besonders stark; die Zahl der Bacillen hat stark abgenommen. Nach 9 Stunden erscheint das Tier wieder munter; das Exsudat ist eiterig, Phagocytose ist selten, freie Bacillen sind noch nachweisbar, aber sehr spärlich. Am nächsten Tage zeigt das Tier nichts von Peritonitis, erscheint aber doch krank. Das Bauchhöhlenexsudat ist eiterig, ohne Phagocytose, ohne Bacillen. Der Tod tritt als Diphtherietoxintod in der Nacht ein. Im trübeiterigen Exsudate finden sich weder Phagocyten noch Bacillen: die Kultur bleibt steril. Im Eiter des Netzes finden sich noch Granulaphagocyten, und vereinzelte, schlecht gefärbte Bacillen. Die Kultur liefert ca. 100 Kolonieen.

Meerschweinchen 13 erhält $^1/_8$ Oese Typhus in 1 ccm Bouillon intraperitoneal. Der Verlauf der Infektion ist fast genau der gleiche wie bei No. 12. Die Zahl der freien Bacillen war aber nach $5^3/_4$ Stunden noch etwas größer, auch die Peritonitis deutlicher ausgesprochen. Das Tier war am nächsten Tage ebenfalls erholt; das eiterige Bauchhöhlenexsudat war bacillenfrei, und das Tier überlebte.

Meerschweinchen 14 erhält 1 ccm Bouillon, 20 Stunden später $^1/_4$ Oese Staphylokokken intraperitoneal. Die sofortige Kapillarentnahme liefert ein eiteriges Exsudat mit großer Menge von Staphylokokken. Nach $^1/_2$ Stunde ist die Zahl der Leukocyten gesunken, die vorhandenen zeigen fast alle intensivste Phagocytose. Nach $1^1/_2$ Stunden sind die Leukocyten wieder zurückgekehrt, vielfach mit starker Phagocytose: freie Kokken finden sich nur ganz spärlich. Nach 3 Stunden enthält das eiterige Exsudat wohl noch Phagocytosen, aber keine freien Kokken mehr. Nach 22 Stunden sind weder Phagocyten noch Kokken zu finden. Das Tier zeigt keine Krankheitszeichen, magert aber durch ca. 1 Woche ab, um sich vollständig zu erholen.

Meerschweinchen 15 erhält 0,075 ccm Diphtherietoxin in 1 ccm Bouillon und 20 Stunden später $^1/_4$ Oese Staphylokokken intraperitoneal. Es erscheint um diese Zeit weniger munter, und hat ein deutliches weiches Infiltrat an der Injektionsstelle. Der Ablauf der Infektion entspricht vollkommen dem von No. 14, nur war zu allen Zeiten die Zahl der in der Kapillarentnahme gefundenen Leukocyten etwas geringer. Die Phagocytose war nicht minder intensiv als bei No. 14. Der Tod trat in der Nacht des Versuchstages ein. Neben allen Zeichen der Diphtherieintoxikation fanden sich in der Bauchhöhle ca. 3 ccm eines trübroten, nicht übermäßig zellreichen Exsudates, ohne Phagocytose und ohne Kokken. Diese fehlen auch in den eiterigen Auflagerungen, die sich am Netz und sonst in der Bauchhöhle vorfanden. Sehr spärlich wurden einige nicht ganz sichere Phagocytosen aufgefunden.

Meerschweinchen 16 erhielt 0,075 ccm Diphtherietoxin und $^1/_4$ Oese Staphylokokken in 1 ccm Bouillon intraperitoneal. Die sofort vorgenommene Kapillarentnahme lieferte sehr wenige Leukocyten und große Menge von Kokken. Nach $^1/_2$ Stunde zeigten die sehr spärlich vorhandenen, polynukleären Leukocyten Phagocytose, die Kokken waren nicht vermehrt, aber sehr zahlreich. Nach $1^1/_2$ Stunden war die Menge der Leukocyten noch sehr gering, ihre Phagocytose eine intensive; die freien Kokken hatten sich vermindert. Nach 3 Stunden war die Zahl der Leukocyten außerordentlich gestiegen; fast alle befanden sich in lebhafter Phagocytose. Freie Kokken fanden sich nur noch spärlich in kleinen Häufchen. Nach 22 Stunden war das Tier deutlich weniger munter; die Bauchhöhle enthielt Eiter ohne Phagocytosen und ohne Kokken. Der Tod trat als Diphtherietoxintod nach weniger als 48 Stunden ein. Der Befund war analog dem von No. 15.

Meerschweinchen No. 17 erhielt $^1/_4$ Oese Staphylokokken und 1 ccm Bouillon intraperitoneal. Der Verlauf der Infektion war vollkommen dem von No. 16 analog; das Tier überlebte nach starker Abmagerung.

Auch die hier nicht angeführten Versuche mit untertödlichen Gaben von Diphtheriegift nahmen den gleichen Verlauf: auch nicht in einem einzigen Falle ließ sich irgendeine Begünstigung der Infektion mit Diphtheriebacillen oder mit Halbparasiten erzielen. Man wird bei der Durchsicht der mitgeteilten Versuchsprotokolle nicht verkennen, daß alles geschehen ist, um einen derartigen Effekt, wenn er auch nur schwach wäre, hervortreten zu lassen. Es wurde nicht nur die mehrfach tödliche Giftmenge verwendet, sondern diese auch vor der Infektion gegeben, so daß das Tier zur Zeit der Bacilleneinspritzung bereits unter dem Einflusse der vollen Vergiftung stehen mußte, ja daß zwischen Infektion und dem zu erwartenden Gifttode nur ein relativ kurzer Zeitraum lag. Auch der geringere Gehalt an Leukocyten, welcher im Exsudate vergifteter Tiere beobachtet werden konnte, wurde nicht vernachlässigt. Aber offenbar war dieser Unterschied, der sonst wohl auf eine Resistenzverminderung hindeuten könnte, zu gering, als daß im Tierexperimente hätte eine wesentliche Differenz hervortreten können. Die Tiere, welche Diphtheriegift vor der Bacilleninjektion erhielten, zeigten geradeso wie die nur mit Bouillon vorbehandelten Kontrolltiere einen günstigeren Verlauf der intraperitonealen Infektion als normale, also erhöhte Resistenz nicht spezifischer Natur.

Auch die Bakterienmengen, welche zur Infektion dienten, mußten zwar untertödlich sein, waren aber beträchtlich, und die Verfolgung des Ablaufes der intraperitonealen Vorgänge zeigt dies deutlich genug. Namentlich bei den Typhusversuchen konnte es sogar zu einer vorübergehenden Vermehrung der Bacillen kommen, die bis zum reichlichen Zuflusse von Leukocyten anhielt. Die tödlichen Dosen für Meerschweinchen von 200 g waren zur Zeit der mitgeteilten Versuche für Cholera, Typhus und Staphylokokken $^1/_4$, $^1/_5$, $^3/_4$ Oese Agarkultur.

Die anders verlaufenen Versuche, welche Dörr anführt, können somit keine allgemeine Gültigkeit beanspruchen. Sie sind überhaupt nur zu verstehen, wenn man einen anderen Befund in seinen Versuchen berücksichtigt, dessen allgemeiner Gültigkeit hier ebenfalls widersprochen werden muß. Dörr fand nämlich außerordentlich große Schwankungen in der Empfänglichkeit der Tiere (Meerschweinchen) gegen Halbparasiteninfektion, so daß z. B. ein Tier mit einer ganzen Typhuskultur überlebte, ein anderes mit 0,03 Typhuskultur nach 20 Stunden starb, und ähnlich bei anderen Bakterien.

Seitdem Dörr seine Versuche veröffentlichte, sind fast 3 Jahre verflossen, und wir hatten Gelegenheit, bei zahlreichen Versuchen mit verschiedenen Halbparasiten auf diese Verhältnisse zu achten. Mit aller Sicherheit können wir behaupten, daß wir von derartigen Schwankungen nicht einmal bei Kaninchen, die sehr spröde Versuchstiere sind, und wo es auf das Gewicht und die Abkunft der Tiere ankommt, etwas gesehen haben, viel weniger noch bei Meerschweinchen.

Es kann gewiß vorkommen, daß einmal ein Tier die z. B. mit $^1/_{10}$ Oese festgestellte Dosis letalis überlebt, ein anderes schon mit $^1/_{12}$ oder $^1/_{15}$ Oese stirbt. Aber das sind vereinzelte Fälle, welche das sichere Arbeiten mit Halbparasiten nicht beeinträchtigen können und ihre Erklärung wahrscheinlich in der relativ geringen Exaktheit der Messung der Bakterienmengen mit der Oese oder mit Bruchteilen einer Kultur finden, und die überdies wenig stören, wenn man den intraperitonealen Infektionsverlauf durch Kapillarentnahme fortlaufend studiert. Wir müssen daher auf Grund sehr zahlreicher Versuche die allgemeine Gültigkeit der Ergebnisse Dörrs entschieden bestreiten und können ihnen für weitere Versuche keine Bedeutung beilegen. Hätten die Ergebnisse Dörrs allgemeine Geltung, dann bliebe es bei dem, was wir schon vor Jahren aussprachen, daß alle Versuche mit Halbparasiten revidiert werden müßten, ja daß das Experimentieren mit ihnen fast unmöglich sei.

Das positive Ergebnis der mitgeteilten Versuche ist, daß trotz Einwirkung tödlicher Dosen echter Bakterientoxine die antibakteriellen Schutzkräfte des Organismus im wesentlichen erhalten bleiben, daß sich also die Vergiftung nicht gegen diese Art der Abwehrkräfte richtet. Das konnte schon aus der Beobachtung des Infektionsverlaufes bei „Nekroparasiten“ [1]) geschlossen werden, welche es, wie die Diphtherie- oder Tetanusbacillen, trotz intensivster Vergiftung des Tieres zu keiner erheblichen Vermehrung im Tierkörper bringen.

Daraus folgt die Unabhängigkeit von Aggressivität, welche nur auf die Vermehrungsflüssigkeit der Bakterien hinarbeitet und Toxizität, welche schwerste Krankheit erzeugen kann, ohne daß sie von einer bedeutenden Wucherung der Toxinbildner begleitet ist.

Wenigstens gilt dies für Versuche wie die mitgeteilten, wo es sich innerhalb weniger Stunden entscheidet, ob die Bakterien oder der Tierorganismus siegreich bleibt, während nicht bestritten werden soll, daß bei mehr chronisch verlaufenden Infektionen tatsächlich eine Begünstigung derselben durch Diphtherievergiftung eintreten kann. Natürlich liegen dann die Verhältnisse ganz anders.

Es ist klar, daß die in letzter Zeit mit mehr Eifer als Erfolg studierten Endotoxine anders als die echten Toxine beurteilt werden müssen. Denn diese sind gelöste Bakteriensubstanz, enthalten davon mindestens erhebliche Mengen und üben einen direkten Einfluß auf Immunkörper und Komplement der Körpersäfte, damit indirekt wahrscheinlich auch auf Körperzellen aus. Es ist nicht ohne weiteres zu sagen, ob diese Wirkung oder die Giftigkeit der Bakterienextrakte ihre infektionserleichternde Fähigkeit erklärt; nach den Versuchen mit Diphtheriegift ist aber ersteres höchstwahrscheinlich.

---

1) Vgl. Folia serologica. Bd. 9. 1908. p. 75.

Nachdruck verboten.

Eine neue Katzenseuche.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Greifswald
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler).]

Von Dr. med. vet. **Gaertner,** Tierarzt aus Wolgast.

In dem Katzenzwinger des Hygienischen Instituts der Universität zu Greifswald brach Anfang Oktober 1908 eine Seuche aus, an der im Laufe von 4 Tagen 6 Katzen und späterhin noch 2 starben.

Bei der Obduktion der Kadaver wurde in allen Fällen eine mehr oder weniger stark ausgebreitete multiple, nekrotisierende Pneumonie angetroffen, die bei 3 Tieren mit einer hämorrhagisch-fibrinösen Pleuritis verbunden war.

Der pathologisch-anatomische Befund hatte eine sehr große Aehnlichkeit mit dem Bilde der bei der Schweineseuche sich vorfindenden pathologisch-anatomischen Lungenveränderungen.

In den aus den hepatisierten Lungenteilen, aus der Milz sowie aus dem Herzblute hergestellten Ausstrichpräparaten konnte stets ein sehr kleines, kurzes, ovoides Stäbchen mit bipolarer Färbung nachgewiesen werden, das sich bei der Gramschen Färbung negativ verhielt.

In den aus den erkrankten Lungenabschnitten, aus dem Herzblute und der Milz angelegten Kulturen gingen massenhaft Kolonieen auf, welche die gleichen Stäbchen enthielten.

Das mikroskopische und das kulturelle Bild war nahezu das gleiche wie bei der hämorrhagischen Septikämie.

In den hepatisierten Lungenabschnitten war das Stäbchen vielfach vergesellschaftet mit anderen Organismen, die aber im Herzblut und in der Milz fehlten, so daß aus diesen Organen stets Reinkulturen gewonnen werden konnten.

Die Reinkulturen zeigten sich pathogen für Kaninchen, Meerschweinchen, weiße Mäuse, Hunde und Katzen.

Im Auftrage des Herrn Direktors des Instituts, des Geh. Med.-Rats Prof. Dr. Loeffler, habe ich diese Seuche bearbeitet, und berichte nachstehend über das Ergebnis meiner Untersuchungen.

Literatur.

In der Literatur, soweit sie mir zur Verfügung stand, habe ich nur einen einzigen Fall beschrieben gefunden, der an die Greifswalder Katzenseuche erinnert.

Prof. Dr. E. Marx[1]) berichtet im Centralblatt für Bakteriologie über eine bei einem Königstiger beobachtete Lungenerkrankung, welche durch ein zur Gruppe der sogenannten Pasteurellosen gehöriges Stäbchen bedingt gewesen ist.

Der Verlauf des Falles war kurz folgender:

Es handelt sich darin um einen indischen Königstiger, der nach $^1/_2$-jährigem Aufenthalte im Zoologischen Garten zu Frankfurt a. M. unter den klinischen Erscheinungen einer Pneumonie erkrankte und nach 14-tägiger Krankheitsdauer verendete.

---

[1]) Marx, E., Der Erreger der Pneumonie eines Königstigers (Bac. pneumoniae tigris). (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 581.)

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Auf Grund der Obduktion wurde die Diagnose gestellt:

Chronische, zum Teil abscedierende und subakute hämorrhagische Pneumonie beider Lungen, namentlich der Unterlappen. Kavernenbildung, besonders im rechten Unterlappen. Oedem und Hyperämie beider Lungen, bullöses Emphysem. Myodegeneratio cordis. Leber in beginnender Fäulnis. Milz, Darm, Nieren, Genitalien o. B. Halsorgane nicht seziert.

Nach diesem Obduktionsbefunde war also zu einer chronischen Bronchititis eine akute hämorrhagische Pneumonie getreten.

Die mikroskopische Untersuchung der Lunge führte nicht zu einem eindeutigen Ergebnis, da die äußerst spärlichen gramnegativen Keime so klein waren, daß nur die Andeutung der Polfärbung dafür sprach, daß es sich nicht um Kokken, sondern um Bakterien handelte.

„Mit dem blutigen Abstrich wurden verschiedene Nährböden beschickt. Es gelang auf 2 Röhrchen (ein Agar- und ein Loeffler-Serumröhrchen) je zwei kleine tautropfenähnliche Kolonieen zu erhalten, die in ihrer Zartheit und Farbe auf dem Blutagar, zu dem der Agar durch den Ausstrich geworden war, völlig denen der Influenza glichen. Auf dem Agar waren es sehr kleine influenzaähnliche Stäbchen, auf dem Loeffler-Serum längere und schlankere Formen. Bei der weiteren Ueberimpfung auf Loeffler-Serum, gewöhnlichen Agar und Blutagar, versagt der gewöhnliche Agar vollständig, nur auf Blutagar und Loeffler-Serum, das allerdings aus einem sehr sanguinolenten Serum dargestellt war, also Hämoglobin wenigstens in kleinen Mengen enthielt, ergab die weiter unten zu beschreibenden Kolonieen. Erst in der 4. Generation gelang es, nachdem immer wieder die Kultur auf Agar versucht worden war, auch auf gewöhnlichem Agar Wachstum zu erzielen.

Das Aussehen der Mikroben ist auf den verschiedenen Nährböden etwas verschieden. Auf Agar und Bouillon sind es ovoide Stäbchen, deren Länge zwischen 0,6 und 0,8 μ meistens schwankt, nur vereinzelte größere bis zu 1 μ messende Exemplare werden sichtbar. Hin und wieder wird ein längerer Scheinfaden beobachtet.

Auf Blutagar überwiegen die größeren 1 μ betragenden Formen. Auch das ovoide Aussehen der Stäbchen vom Agar ist meist nicht zu beobachten, sondern es haben fast alle Individuen eine schöne Stabform.

Auf Loeffler-Serum wachsen die Bacillen als schlanke tuberkelbacillenähnliche meist 2 μ lange Stäbchen.

Im hängenden Tropfen kann man die absolute Unbeweglichkeit konstatieren.

Die Kultureigentümlichkeiten des Bacillus sind folgende:

Auf Blutagar bilden sich sehr feine stecknadelspitzgroße Kolonieen, die bei dichter Aussaat in einigen Tagen einen zusammenhängenden Rasen bilden, der nie den Rand des Reagensglases erreicht. Von oben betrachtet hat der Belag einen leicht grauen Farbenton, während er bei durchfallendem Licht ganz durchscheinend ist.

Bei ganz isoliertem Wachstum entstehen Riesenkolonieen, die einen Durchmesser von fast 1 mm erreichen können. Diese sind leicht gewölbt und von grüngelblicher Farbe. Die Beläge haften niemals dem Nährboden fest an, sie sind aber etwas schleimig und klebrig, so daß eine Verreibung in Kochsalzlösung oder Bouillon nicht gelingt. Es ergibt immer nur Bilder, wie bei einer guten Agglutination. Blutfarbstoff, wenigstens aus Tauben- und Kaninchenblut wird nicht gelöst.

Auf Agar ist das Wachstum jetzt recht gut, dem auf Blutagar sehr ähnlich. Der Belag ist aber anfangs so dünn, daß auf den ersten Blick die Röhrchen unbewachsen erscheinen, nur die Ränder des Belages zeichen ein üppigeres Wachstum von grünlicher Farbe. Auch diese Kulturen sind klebrig und lassen sich nicht zerreiben.

Auf Loeffler-Serum bildet sich ein ganz dünnes Häutchen, das nur an den Rändern ganz schwach sichtbar ist. Erst die mikroskopische Untersuchung lehrt, daß die ganze Oberfläche bewachsen ist. Nach 3—4 Tagen, in der letzten Zeit auch schon oft am 2. Tage, ist der Bakterienbelag als dünne, feuchte, etwas irisierende Auflagerung zu erkennen.

Im Bouillonröhrchen kommt es zu einem relativ guten Wachstum, wenn dieses nur 1—2 cm hoch eingefüllt ist. Es kommt dann zu einem Bakterienwachstum in der ganzen Bouillon, doch stets in feinen Klümpchen, so daß der Eindruck der Agglutination entsteht. Nach einigen Tagen bildet sich ein Bodensatz und ein schwaches Häutchen. Sehr kümmerlich ist das Wachstum bei hoher Bouillonfüllung. Hier bleibt die Bouillon klar und nur ein ganz geringer Bodensatz, aus Bakterien bestehend, kann nachgewiesen werden.

Im Traubenzucker bei hoher Schicht kommt nur in der Oberfläche ein ganz kümmerliches Wachstum zustande. Der Mikrobe ist offenbar streng aërob. Auf Kartoffeln, und zwar weder auf der natürlich sauren, noch auf der alkalisierten, konnte der Bacillus zum Wachstum gebracht werden.

In Gelatine bei 20° tritt nach 2—3 Tagen kümmerliches Wachstum (sehr kleine Kolonieen) auf. Das Temperaturoptimum ist eben Bruttemperatur. Der Bacillus vermag nicht Indol zu bilden.

Seine Ueberimpfbarkeit ist auf gewöhnlichem Agar sehr gering. Schon nach 10 Tagen waren die Kulturen nicht mehr abimpfbar, während Blutagarkulturen noch ohne weiteres nach 43 Tagen angingen.

Gegen Desinfizientien und Wärmeeinfluß ist er sehr hinfällig. Eine einstündige Erwärmung auf 60° vermochte ihn stets glatt abzutöten.

In seiner Pathogenität entspricht er dem Verhalten der übrigen Mikroben der Pasteurella-Gruppe. Er vermag in kleinen Dosen unter dem Bilde einer allgemeinen Septikämie Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen zu töten, doch ist seine Kaninchenvirulenz nicht sehr bedeutend, da ein mit 1 ccm intravenös geimpftes Tier in einem Falle mit dem Leben davon kam.

Interessant ist, daß er für Katzen nicht besonders virulent zu sein scheint. Eine Katze überstand ohne Reaktion eine intratracheale Injektion von $^1/_2$ ccm, eine andere eine Injektion von 2 ccm intraperitoneal. Bei einer dritten stellten sich nach 2 ccm intravenös Durchfälle ein, das Tier wurde matt, doch erholte es sich im Laufe einer Woche wieder vollkommen. Erst 10 ccm intraperitoneal töteten innerhalb 18 Stunden.

Die pathologischen Erscheinungen an Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen sind die üblichen, d. h. alle Lymphdrüsen sind hochgradig hämorrhagisch und geschwollen und auch sonst finden sich, bei den einzelnen Tieren nicht immer an gleichen Organen, zahlreiche Blutergüsse. Besonders scheinen die Schleimhäute des Darmes bevorzugt zu sein, doch sind auch Hämorrhagieen in der Leber, der Niere, Nebenniere und den Lungen beobachtet worden. In letzteren in 2 Fällen bei Meerschweinchen war eine hämorrhagische Pneumonie vorhanden.

Abgetötete Kulturen wirken meist, aber nicht immer, in Dosen von 2 ccm deletär auf Kaninchen. Die Erscheinungen waren dieselben wie bei der Impfung mit lebender Kultur. Es ist selbstverständlich, daß die kulturelle Herzblutprüfung stets das Freisein von Bakterien ergeben hat.

Marx kommt auf Grund seiner Untersuchung zu dem Schlusse, daß es sich um einen Mikroorganismus handelt, der wegen seines morphologischen, kulturellen und tierpathogenen Verhaltens, das er nach vierfacher Umzüchtung zeigte, in die Gruppe der Pasteurellosen zu rechnen ist, trotzdem er anfänglich in seiner Gestalt und in seinem kulturellen Verhalten in mancher Beziehung sehr an den Influenzabacillus erinnerte.

Die Greifswalder Katzenseuche.

Der Katzenzwinger des Hygienischen Instituts befindet sich in einem einstöckigen massiven Hause mit Pappdach zu ebener Erde und wird durch ein Drahtgitter abgeschlossen. Die etwa 3 qm große Bodenfläche besteht aus Zement. Die Höhe des Zwingers beträgt 2 m.

In diesem Zwinger wurden im April und Mai 1908 5 erwachsene weibliche Katzen, zum Teil mit säugenden Jungen, und 2 Kater, zusammen 17 Stück, untergebracht.

Die alten Katzen wurden sogleich nach der Einstellung mit dem Erreger der Nagana (Tsetsekrankheit) infiziert. Sie erkrankten prompt und wurden alsdann in 5-tägigen Zwischenräumen mit 3 Darreichungen von

I.	II.	III.	
0,003	0,004	0,005	p. Ko. Acid. arsenicos. per os
0,03	0,04	0,05	„ „ Atoxyl subkutan

behandelt, worauf schon nach der ersten Gabe die Trypanosomen aus dem Blute verschwanden und dauernd verschwunden blieben [1]).

Einige der säugenden Katzen wurden durch die Infektion angegriffen und nahmen mehrere 100 g an Gewicht ab, doch fingen sie schon wenige Tage nach der dritten Gabe wieder an, sich zu erholen und an Gewicht zuzunehmen. Die sich gut entwickelnden Kätzchen sind durch die Mutter nicht infiziert worden, doch hatten sie durch die Aufnahme der Milch auch keine Immunität erlangt, da zwei derselben, die mehrere Wochen nach der Behandlung mit Nagana infiziert wurden, prompt erkrankten und starben.

Zur Feststellung, ob die Katzen definitiv geheilt waren, wurden sie in dem Zwinger weiter beobachtet und regelmäßig auf Trypanosomen untersucht. Sie befanden sich bis Ende September in ausgezeichnetem Ernährungs- und Gesundheitszustande und waren dauernd frei von Trypanosomen. Die Katzen waren demnach definitiv geheilt.

In den letzten Tagen des September wurden 2 Katzen verschenkt, so daß Anfang Oktober noch 6 alte und 7 junge Katzen im Zwinger waren. Am 5. Oktober wurde morgens eine junge Katze tot aufgefunden. Sie hatte einige Tage lang wenig Nahrung aufgenommen, häufig geniest und gehustet. Als weiteres Symptom stellte sich später erschwerte Atmung ein.

Zwei andere junge Katzen waren ebenfalls erkrankt, sie zeigten ein trauriges, mürrisches Benehmen, waren mat und lagen viel in der Streu. Bei beiden war schleimig-eitriger Nasenausfluß vorhanden. Die Atmung war beschleunigt, stark erschwert und pumpend unter intensiver Mitwirkung der Bauchmuskeln. Appetit auf feste Nahrung war völlig unterdrückt, dagegen tranken die Katzen öfter etwas Milch.

---

1) **Loeffler**, F., **Rühs**, K. und **Walter**, E., Die Heilung der experimentellen Nagana (Tsetsekrankheit). (Deutsche med. Wochenschr. 1908. p. 34.)

Sehr oft war Niesen und ein schwacher hohler Husten, der schmerzhaft zu sein schien und deshalb häufig unterdrückt wurde, zu hören. Am nächsten Tage war die Atmung noch angestrengter und beschleunigter, sie geschah über 60mal in der Minute unter lautem Schnarchen und Schniefen, die Schwäche hatte noch mehr zugenommen, so daß die Tiere sich kaum auf den Füßen erhalten konnten. Der Tod erfolgte am 7. Oktober. Am 8. und am 9. Oktober gingen je eine Katze und ein erwachsener Kater, nachdem sie 4 Tuge lang schwer krank gewesen waren, unter denselben Erscheinungen ein. Am selben Tage waren ferner 2 junge blaugraue Katzen deutlich erkrankt. Sie zeigten ein weniger munteres Benehmen, lagen viel in der Streu und beachteten nicht das Herantreten von Personen. Beide hatten serös-schleimigen Nasenausfluß und öfter machte sich bei ihnen ein Niesen bemerkbar, welches jedesmal den Aerger ihrer Mutter hervorrief, so daß sie stets das niesende Junge mit Ohrfeigen regalierte. Temperatur 39,6 und 39,9 ° C. Die beiden Katzen erhielten am selben Tage je 5 ccm Suptol Burow subkutan. In den nächsten Tagen besserte sich der Zustand dieser Tiere allmählich, sie wurden wieder munterer, das Niesen verlor sich zugleich mit dem Nasenausfluß und sie schienen nach 4 Tagen wieder völlig genesen, da sie, sobald jemand an den Zwinger herantrat, an dem Drahtgitter emporkletterten und Lust zum Spielen zeigten.

Am 15. Oktober hatte die eine der beiden Jungkatzen wiederrum stärkeren Nasenausfluß und nieste öfter. Sie war jedoch munter bis zum 25. Oktober. Von da an verschlimmerte sich der Zustand bedeutend, so daß sie keinen Appetit mehr hatte und abmagerte. Die Atmung begann schneller und angestrengt zu werden und erfolgte unter deutlich hörbarem Schniefen. Der Nasenausfluß nahm eine schleimige eitrige Beschaffenheit an, die Augenlider waren geschwollen, die Conjunctiven gerötet. In den Augenwinkeln befand sich stets ein schleimig-eitriges Sekret, welches allmählich zu Krusten eintrocknete und die Lider miteinander verklebte, so daß die Augen teilweise verschlossen erschienen.

Am 29. Oktober waren die Nasenöffnungen fast gänzlich durch gelbbraune Borken verklebt. Daher erfolgte die Atmung häufig unter Oeffnung des Maules. Sie geschah in der Minute 52mal, wobei ein lautes Schnarchen zu hören war. Die Temperatur betrug im Mastdarm gemessen 40,9 ° C.

Am 30. Oktober war die Katze ganz matt und schwach, die Nasenlöcher waren völlig verklebt.

Als die Krusten entfernt wurden, floß aus beiden Nasenöffnungen weißgelber Eiter. Die Mastdarmtemperatur betrug jetzt 41,6 ° C. Die Atmung war noch angestrengter und pumpender als am Tage vorher und geschah 65mal in der Minute. In den aus dem Naseneiter hergestellten Ausstrichpräparaten waren zahlreiche ovoide, bipolar gefärbte Stäbchen vorhanden.

Die Katze starb am selben Tage abends gegen 6 Uhr.

Am 25. Oktober wurde noch ein grauweißer erwachsener Kater in das Institut zur Sektion gebracht. Er war Ende September, nachdem er von Nagana völlig geheilt war, an den früheren Besitzer zurückgegeben worden.

Nach dem Vorbericht war er bis zum 12. Oktober völlig gesund gewesen und hatte keinerlei Krankheitserscheinungen gezeigt.

Von dieser Zeit an schien er zu kränkeln, doch wurde nicht weiter auf ihn geachtet, da er sich meistenteils verkroch und deshalb wenig

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

beobachtet werden konnte. Am Morgen des 25. Oktober wurde er tot aufgefunden.

Da er auch eitrige Conjunctivitis und eitrigen Nasenausfluß zeigte, war anzunehmen, daß er ebenfalls an der Seuche gelitten hatte. Die Vermutung wurde durch die Sektion bestätigt.

Wie aus dem Vorstehenden zu ersehen ist, war der Verlauf der Seuche gewöhnlich ein akuter, da die erkrankten Katzen immer innerhalb 3—6 Tagen eingingen. Nur bei den beiden jungen blaugrauen Katzen (K. 8 und K. 8a) war er ein chronischer und dauerte bei der ersten vom 8.—30. Oktober und bei der letzten noch viel länger. Diese zeigte noch Anfang Dezember Nasenausfluß und öfteres Niesen, sie war jedoch dabei munter und hatte stets große Lust zu spielen. Sie ist die einzige Katze, welche trotz Aufweisens deutlicher Krankheitssymptome mit dem Leben davongekommen ist.

Die übrigen in dem Zwinger noch vorhandenen Tiere scheinen entweder eine angeborene Immunität gegen die Seuche zu besitzen oder sie waren nur so leicht daran erkrankt, daß sie Krankheitserscheinungen nicht zeigten. Jedenfalls waren sie Mitte November gegen die Seuche immun, da es nicht gelang, sie durch große Dosen Reinkultur (bis zu 9 Röhrchen) und gleichzeitige Beigabe von Bauchfellexsudat geimpfter und verendeter Meerschweinchen durch intraperitoneale und intrathorakale Impfung tödlich zu infizieren, während alle neu eingestellten Katzen der Infektion erlagen.

Was die klinischen Erscheinungen anbetrifft, so war das erste Hauptsymptom in allen Krankheitsfällen häufiges Niesen, gleichzeitig damit wurde stets Nasenausfluß bemerkt. Während der letztere anfangs von serös-schleimiger Beschaffenheit war, ging er innerhalb 2—3 Tagen in einen eitrigen über. Dabei waren die Nasenlöcher völlig mit Eiter ausgefüllt, der bei der Atmung vor- und rückwärts floß.

Der Eiter trocknete bald zu Borken ein und verklebte öfter die Nasenlöcher derartig, daß die Tiere durch das Maul zu atmen gezwungen wurden.

Mit dem Nasenausfluß zugleich war stets eine anfangs seröse, späterhin eitrige Conjunctivitis verbunden. Das eitrige Sekret trocknete in den Augenwinkeln zu Krusten ein und verklebte die Lider, so daß die Augen häufig halb bis dreiviertel geschlossen erschienen.

Die Atmung wurde auf der Höhe der Krankheit angestrengt und geschah meistens unter lautem Schniefen und Schnarchen bis über 60mal in der Minute, die Bauchmuskulatur zeigte dabei eine starke pumpende Beteiligung.

Neben dem Niesen konnte später immer ein schwacher hohler Husten vernommen werden, der nach Möglichkeit unterdrückt wurde und deshalb schmerzhaft zu sein schien. Die gemessenen Temperaturen schwankten bei den erkrankten Tieren zwischen 39,5 und 41,6° C.

Die Nahrungsaufnahme war von Anfang an vermindert und wurde bald völlig unterdrückt, höchstens wurde ab und zu etwas Milch aufgenommen.

Während die kranken Katzen anfangs nur ein unlustiges, mürrisches Benehmen zeigten und viel in der Streu lagen, wurden sie späterhin sehr schwach, konnten sich nur mit Mühe aufrichten und auf den Füßen erhalten.

Der Tod erfolgte in zwei beobachteten Fällen unter zunehmender Schwäche und anhaltendem Liegen in tiefem Coma.

Um im Anschluß an diese klinischen Betrachtungen kurz auf den Modus der Weiterverbreitung der Seuche einzugehen, will ich erwähnen, daß die Infektion hauptsächlich durch den Umstand begünstigt wurde, daß die Patienten durch den starken Nasenausfluß, durch Niesen und Husten den Ansteckungsstoff in großen Mengen ausschieden und im Zwinger verbreiteten.

Ich lasse nunmehr die Sektionsberichte der an der Seuche eingegangenen Katzen folgen.

Sektionsprotokolle.

Katze I,

grauweiß, ca. $^1/_2$ Jahr alt, weiblich. Exitus am 5. Okt. 1908. Sektion 5. Okt. morgens $10^1/_2$ Uhr. Kadaver mit Fettpolstern reichlich versehen.

Pneumopleuritis. In Ausstrichpräparaten aus den hepatisierten Lungenabschnitten vorwiegend kleine ovoide, bipolar gefärbte Stäbchen.

Kulturen wurden nicht angelegt.

Katze II,

schwarzweiß, ca. $^1/_2$ Jahr alt, weiblich. Exitus am 7. Okt. 1908. Sektion am 7. Okt. morgens 10 Uhr. Augen tief in den Höhlen liegend, Augenlider und Nasenöffnungen durch bräunliche Borken verklebt. Nasenschleimhaut geschwollen und mit Eiter bedeckt. Darmentzündung. Milztumor. Leber sehr blutreich und brüchig. In beiden hinteren Lungenlappen hepatisierte Herde, namentlich an den unteren Abschnitten. Auf der Durchschnittsfläche der indurierten Lungenteile wechseln graurote und graugelbe Partieen miteinander ab. Inmitten der größeren grauroten Abschnitte sind stecknadelkopf- bis hirsekorngroße Herde vorhanden, die durch einen schmalen weißlichen Saum eingefaßt sind und dadurch scharf von der Umgebung abgegrenzt werden. Die Konsistenz der Herde ist derb. Die Luftröhre und die größeren Bronchien enthalten rötlichen blasigen Schaum.

In Ausstrichpräparaten aus der Milz sind vereinzelt äußerst kleine ovoide Kurzstäbchen, die bipolar gefärbt sind, zu sehen. In Ausstrichen aus den hepatisierten Lungenabschnitten sind diese Stäbchen sehr zahlreich, doch kommen daneben auch noch längere schlanke und kurze plumpe Stäbchen vor.

Ich schicke ein für allemal voraus, daß hier wie in allen folgenden Fällen die veränderten Lungenabschnitte, Milz und Leber zum Härten in Alkohol absolutus und Aceton āā gelegt wurden.

Kulturen wurden angelegt auf Blutagar aus a) Milz, b) Lungen, c) Leber.

Während in den Kulturen aus der Milz nach 24 Stunden nur feine, tautröpfchenähnliche, bläulich durchscheinende Kolonieen sich entwickelt hatten, waren in den Lungen- und Leberkulturen größere und kleinere Kolonieen gewachsen.

Die kleinen Kolonieen bestehen aus feinen, bipolar gefärbten Kurzstäbchen, die größeren aus kurzen, dicken, coliartigen Stäbchen. In Schnitten der in Alkohol absolutus und Aceton gehärteten Lungen sind neben langen schlanken und dicken plumpen Stäbchen äußerst zahlreiche, sehr kleine ovale Kurzstäbchen mit deutlicher Polfärbung vorhanden, die meist in Nestern zusammenliegen.

Besonders schön kommen die Bakterien in Schnitten, die nach der von **Löffler** angegebenen Methode in einer Mischung von Borax-Methylenblau-Polychromen-Methylenblau-Bromeosinlösung gefärbt und hinterher kurze Zeit mit Tropäolin-Essigsäurelösung entfärbt waren, zur Erscheinung (2).

Die ovoiden, bipolar gefärbten Stäbchen werden von nun an „Stäbchen F“ genannt.

Katze III,

ca. $^1/_2$ Jahr alt, schwarzweiß. Exitus am 7. Okt. 1908. Sektion am 7. Okt. morgens 11 Uhr.

Nasenschleimhaut verdickt. Dünndarmschleimhaut geschwollen und gerötet, Milz stark vergrößert und weich, Leber groß und brüchig. Beiderseitige Pneumonie der hinteren Lungenlappen. Die Hepatisation erstreckt sich über den ganzen hinteren Lungenlappen. Im mittleren Lungenlappen vereinzelte bis hanfkorngroße pneumonische Herde.

In den Ausstrichpräparaten aus der Milz vereinzelte Stäbchen F.

In den Ausstrichpräparaten aus der Lunge sind diese Stäbchen sehr zahlreich neben langen schlanken Stäbchen.

Die Stäbchen F nehmen die **Gram**sche Färbung nicht an.

Kulturen aus Milz, Herzblut, Lungen. Sehr kleine, tautropfenförmige Kolonieen von Stäbchen F.

Katze IV,

grau, ca. 1/2 Jahr alt. Exitus am 8. Okt. morgens 8 Uhr. Sektion morgens 10 Uhr desselben Tages.

Nasenschleimhaut geschwollen. Am Digestionsapparat keine pathologischen Veränderungen. Leber sehr groß und blutreich. Milz um das Doppelte geschwollen. Pulpa weich. Starke Hepatisation des linken hinteren Lungenlappens mit eingesprengten weißlichgelben nekrotischen Herden von Hirsekorngröße.

Ausstrichpräparate aus Milz, Leber, Herzblut vereinzelte Stäbchen F. Aus den Lungen zahlreiche Stäbchen F nebst anderen Stäbchen und Kokken.

Kulturen angelegt auf Agar und Blutagar aus Milz, Leber, Lunge, Herzblut. Kolonieen Stäbchen F.

Am nächsten Tage zeigten die Kulturen aus der Milz auf Blutagar vereinzelte große, weiße, saftige Kolonieen, dazwischen lagen zahllose kleine, punktförmige, glashelle Kolonien „Stäbchen F“. Auf Agar war nichts gewachsen. Ebenso waren die Kulturen aus der Leber auf gewöhnlichem Agar steril. Aus dem Herzblut auch auf Agar vereinzelte kleine Kolonieen Stäbchen F.

Die Kulturen aus den hepatisierten Lungenteilen ergaben zahlreiche über stecknadelkopfgroße, weiße, saftige Kolonieen, dazwischen lagen vereinzelte ganz kleine, mit unbewaffnetem Auge kaum zu erkennende glashelle Kolonieen.

Die großen Kolonieen erwiesen sich in den gefärbten Präparaten als plumpe coliartige Stäbchen, die kleineren dagegen als „Stäbchen F“.

Katze V.

Erwachsener schwarzweißer Kater. Exitus am 9. Okt. Sektion 9. Okt. morgens 11 Uhr. Nasenschleimhaut geschwollen. Am Digestionsapparat nichts Abnormes.

Milz groß und stark geschwollen. Leber sehr blutreich. Nieren normal. In der Brusthöhle etwa 5 ccm rötlichgelbes trübes Exsudat. Lungen an den hinteren Lappen mit einem gelblichgrauen fibrinösen Belage bedeckt und mit der Brustwand verklebt. Nach Entfernung des Belages ist die Pleura pulmonaris trübe, glanzlos und rauh.

Unter der getrübten Pleura ist das Lungengewebe derb und fest.

Beide hinteren Lungenlappen sind völlig hepatisiert und mit helleren stecknadelkopf- bis hirsekorngroßen nekrotischen Herden durchsetzt. In den Ausstrichpräparaten aus dem indurierten Lungengewebe sind mikroskopisch zahlreiche diplokokkenartige Bakterien nachzuweisen, die mit Kapseln umgeben sind. Daneben liegen sehr viele Stäbchen F.

In den aus Milz, Lunge und Herzblut angelegten Kulturen nach 24 Stunden zweierlei Kolonieen, größere und sehr kleine glashelle. Während die größeren aus diplokokkenartigen Bakterien bestehen, sind die kleinen durch Stäbchen F gebildet.

Die großen Kolonieen überwucherten die kleinen, als die Kulturen mehrere Tage lang bei Zimmertemperatur gestanden hatten.

In den gehärteten Lungenschnitten sind die Stäbchen F in zahlloser Menge, meist in Nestern liegend, vorhanden, daneben sind jedoch auch die diplokokkenartigen, mit einer Kapsel umgebenen Bakterien vertreten.

Katze VI.

Junge graue Katze war 4 Tage lang sichtbar krank. Exitus am 9. Okt. 1908. Die Sektion des im Eisschrank aufbewahrten Kadavers erfolgte am 10. Okt. morgens 10 Uhr.

Milz stark geschwollen. Leber groß und stark mit Blut gefüllt. Pneumopleuritis. Pleura pulmonalis rauh und durch Fibringerinnsel mit der Pleura costalis verklebt.

Starke Hepatisation beider hinteren Lungenlappen. Die Schnittfläche graurot mit zahlreichen hellen, derben, nekrotischen Herden.

Das Bild ähnelt sehr den hepatisierten Lungenabschnitten bei Schweineseuche.

Herzbeutel stark injiziert. Epicard zahlreiche punktförmige Blutungen. In Ausstrichpräparaten aus der Milz vereinzelte Stäbchen F.

In Ausstrichpräparaten aus den hepatisierten Lungenabschnitten zahllose Stäbchen F mit plumpen, coliartigen Stäbchen und Kokken.

Kulturen auf Blutagar aus Milz, Herzblut, Lungen. Zweierlei, größere saftige und kleine glashelle Kolonieen.

Die größeren Kolonieen bestehen aus coliartigen Stäbchen, die kleineren aus Stäbchen F.

Nach einigen Tagen waren die kleinen von den großen Kolonieen völlig überwuchert, so daß es nicht mehr gelang, die kleinen reinzuzüchten.

In den gehärteten Lungenschnitten waren neben coliartigen Stäbchen zahllose Stäbchen F in Nestern liegend vorhanden.

Katze VII, Peter.

Grauweißer erwachsener Kater. Sektion am 25. Okt. morgens 11 Uhr.

Nierenrinde weißgrau, leichter Milztumor. Kongestion im rechten hinteren Lungenlappen.

In Ausstrichpräparaten aus der Milz, dem Herzblut und den Lungen konnten keine Mikroorganismen gefunden werden.

Kulturen auf Blutagar aus Milz und Herzblut: steril.

Aus den Lungen sehr zahlreiche kleine und nur wenige große Kolonieen.

Die großen Kolonieen aus coliartigen Stäbchen, die kleinen aus Stäbchen F bestehend.

Kulturen wurden mehrere Male umgezüchtet und ergaben auf Blutagar Reinkulturen Stäbchen F.

Katze VIII.

Junge blaugraue Katze, ca. $^1/_2$ Jahr alt, mit weißer Vorderbrust.

Vorgeschichte wie oben geschildert. Exitus am 30. Okt. abends 6 Uhr. Sektion am 31. Okt. morgens 10 Uhr.

Kadaver stark abgemagert. Augenlider und Nasenlöcher mit schleimig-eitrigem Sekret, das zu Borken eingetrocknet ist, verklebt. In der Nasenhöhle ist die Schleimhaut geschwollen und mit Eiter bedeckt. Milz stark geschwollen. Leber groß und brüchig. Beide hinteren Lungenlappen in den unteren Abschnitten hepatisiert. Auch der mittlere linke Lungenlappen enthält vereinzelte bis erbsengroße pneumonische Herde. Durchschnittsfläche der hepatisierten Lungenabschnitte graurot mit kleinen nekrotischen Herden durchsetzt. Aus den Bronchien entleert sich glasiger Schleim.

In den Ausstrichpräparaten aus Milz und Herzblut vereinzelte Stäbchen F. In den Lungenausstrichen sehr viele Stäbchen F.

Kulturen auf Blutagar aus Milz: verunreinigt; aus Lunge: kleine tautropfenähnliche Kolonieen von Stäbchen F.

Zusammenfassung der pathologisch-anatomischen Befunde.

Aus den mitgeteilten Sektionsberichten geht hervor, daß in allen Fällen schwere Veränderungen am Respirationstraktus vorhanden waren. Denn es wurde stets eine mehr oder weniger stark ausgebreitete multiple nekrotisierende Pneumonie angetroffen, die hauptsächlich die hinteren Lungenlappen befallen hatte.

Bei mehreren Katzen wiesen auch die mittleren Lungenlappen kleine pneumonische Herde auf.

Die veränderten Lungenabschnitte waren derb und fest, nicht lufthaltig und auf dem Durchschnitte graurot gefärbt.

In den grauroten Partieen waren stecknadelkopf- bis hirsekorngroße graugelbe Herde vorhanden, die durch einen rötlichen Saum begrenzt wurden und dadurch deutlich von ihrer Umgebung abgesetzt erschienen.

Die Konsistenz dieser Herde war fest. Das interstitielle Gewebe der einzelnen Lungenläppchen war deutlich als ein feines Netzwerk sichtbar, so daß die einzelnen Lungenläppchen voneinander getrennt erschienen. Die Bronchien waren mit feinblasigem Schleim angefüllt, der sich auf Druck entleerte.

Die Schleimhaut der Luftröhre war geschwollen und graurot gefärbt. Die Nasenschleimhaut war ebenfalls geschwollen und mit Eiter bedeckt. In 3 Fällen war neben der Pneumonie zugleich eine hämorrhagisch-fibrinöse Pleuritis vorhanden. Die Brustfellsäcke enthielten bis zu 5 ccm eines rötlich-gelben Exsudates.

Die Pleura pulmonalis war an den indurierten Lungenabschnitten getrübt, rauh und mit einem graugelben, fibrinösen Belage bedeckt, durch welchen die Lungen stellenweise mit der Brustwand verklebt wurden. Der Herzbeutel enthielt nur einmal eine geringe Menge gelblichroter Flüssigkeit.

Die Milz war in allen Fällen stark geschwollen, die Leber groß und brüchig.

Die Conjunctiven zeigten stets einen eiterigen Katarrh.

Einmal war neben diesen Veränderungen noch eine Darmentzündung vorhanden.

Auffällig ist, daß bei allen Katzen stets die hinteren Lungenlappen erkrankt waren, die vorderen Lappen gar nicht und die mittleren nur ganz geringe pneumonische Herde aufwiesen im Gegensatz zur Schweineseuche und der infektiösen Kälberpneumonie, bei denen ausschließlich die vorderen Lungenlappen die Hauptveränderungen enthalten. Bei dieser Gelegenheit möchte ich noch darauf hinweisen, daß auch bei der von Marx beschriebenen Pneumonie eines Königstigers die hinteren Lungenlappen erkrankt waren.

Morphologisches und kulturelles Verhalten des isolierten Kurzstäbchens.

In sämtlichen beobachteten Fällen wurde ein und dasselbe, äußerst kleine, ovale, im hängenden Tropfen unbewegliche Kurzstäbchen gefunden, das sich nicht nach Gram färben ließ, deutliche Polfärbung bei nicht zu intensiver Färbung und stärkerer Vergrößerung zeigte, und dem Erreger der hämorrhagischen Septikämie sehr ähnelte. In der Milz und dem Herzblute wurden diese Stäbchen stets in Reinkultur angetroffen.

Häufig waren sie zu zweien aneinandergereiht, so daß durch diese Formation das Bild des Diplococcus pneumoniae vorgetäuscht wurde.

Manchmal bildeten sie durch Anlagerung mehrerer Stäbchen kurze Scheinfäden, die jedoch bei Anwendung einer stärkeren Vergrößerung als eine Reihe von Kurzstäbchen sofort zu erkennen waren.

Die Länge der Stäbchen F in den erkrankten Organen der Katzen, Kaninchen, Meerschweinchen und Hunde betrug ca. 0,4—0,5 μ. Die Breite 0,3—0,4 μ. Nur im Mäusekörper kamen neben den kleinen, höchstens 0,5 μ langen Stäbchen noch längere bis zu 1,2 μ große Gebilde vor und zwar konstant, da in allen 15 untersuchten Fällen neben wenigen kleinen, stets in überwiegender Anzahl die größeren vorhanden waren. Ihre Breite betrug im Mäusekörper ca. 0,4—0,6 μ. In den Kulturen waren die Stäbchen F jedoch stets nur ca. 0,4—0,5 μ lang.

Aus der Milz, dem Herzblute und den hepatisierten Lungenabschnitten wurden von allen sezierten Tieren Kulturen angelegt.

Das Stäbchen F wächst auf Agar, auf Blutagar, auf Loefflerschem Blutserum sehr gut, langsam auf Gelatine und schlecht auf der Kartoffel.

Auf Agar und Blutagar entwickeln sich innerhalb 24 Stunden bei 37° C kleine, zarte, tautropfenähnliche, punktförmige bis stecknadelkopfgroße, durchsichtige Kolonieen, welche bei dichter Aussaat einen glänzenden, feinen, bläulich-weißen Rasen bilden.

Der Blutagar wurde in der Weise hergestellt, daß der im Institut gebräuchliche unfiltrierte Nähragar, der zuvor durch Absetzenlassen von den groben Trübungen befreit war, im Reagensglas bei 40° C mit 1—2 ccm sterilem, defibriniertem Hammelblut versetzt wurde.

Die Ränder der einzelnen Kolonieen sind meistens gezähnelt.

Sind nur wenige Kolonieen auf dem Nährboden vorhanden, so werden sie viel größer und erreichen öfter einen Durchmesser von $1\frac{1}{2}$—2 mm.

Haben die Kulturen einige Tage lang bei Zimmertemperatur gestanden, so verschwindet ihr Glanz und sie werden matt. Nimmt man eine Kolonie mit der Oese ab, dann ist sie schleimig und fadenziehend.

Bei Zimmertemperatur entwickeln sich die Stäbchen F nicht so gut, und es dauert in der Regel 48—72 Stunden, bis ein deutliches Wachstum sichtbar wird.

Auf Loefflerschem Blutserum gedeiht das Stäbchen ebenfalls sehr gut, es entsteht ein zunächst durchsichtiger, späterhin matter werdender, weißlicher, dünner Belag, in welchem die einzelnen Kolonieen etwas stärker prominieren wie auf Agar oder Blutagar.

In Bouillon tritt nach 24 Stunden bei 37° C eine leichte Trübung ein, die jedoch beim Stehen in Zimmertemperatur nach ca. 4 Tagen wieder verschwindet. Es entsteht nun ein weißlicher flockiger Bodensatz und manchmal zeigt sich auf der Oberfläche der Bouillon und am Glase eine schwache Kahmhaut.

In Gelatine tritt bei Zimmertemperatur nach 3—4 Tagen ein kümmerliches Wachstum ein und man sieht ganz vereinzelte, kaum mit bloßem Auge erkennbare, äußerst kleine, helle Kolonieen.

Nach ca. 8 Tagen ist jedoch die ganze Gelatine bewachsen. Mit bloßem Auge erscheinen die Kolonieen als kleinste weiße Pünktchen. Unter dem Mikroskop gesehen, erwecken sie den Eindruck, als ob lauter Blutkörperchen im Gesichtsfelde lägen. In tiefer Schicht ist das Wachstum sehr spärlich.

Verflüssigung der Gelatine tritt nicht ein.

Auf der Kartoffel wächst das Stäbchen F sehr schlecht, und nur dann, wenn Blut oder Milzmaterial mit ausgestrichen ist, entwickelt sich ein leichter feuchter, durchsichtiger Belag von der Farbe der Kartoffeloberfläche. Versucht man jedoch, von diesem Belage auf Kartoffeln weiter zu übertragen, so bleiben diese steril.

Milch wird durch Stäbchen F weder zum Gerinnen gebracht noch in ihrer Reaktion verändert. Traubenzucker wird nicht vergärt. Dagegen wird stets Indol gebildet.

In Loefflerschen Grünlösungen[1]) gedeiht das Stäbchen nicht. Beide Grünlösungen werden durch ihn nicht in ihrer Farbe verändert.

Sporen werden nicht gebildet. Geißeln sind nicht vorhanden.

Wie schon oben kurz erwähnt, waren in den Ausstrichpräparaten aus den hepatisierten Lungenabschnitten stets neben den Stäbchen F noch andere Bakterien vorhanden. Namentlich deutlich war dies in den mit der Loefflerschen Farblösung gefärbten und hinterher mit Tropäolin-Essigsäurelösung kurze Zeit entfärbten gehärteten Lungenschnitten zu beobachten.

Schon bei schwacher Vergrößerung war zu erkennen, daß sich die erkrankten Lungenpartieen von dem gesunden Lungengewebe deutlich abhoben.

---

[1]) Loeffler, F., Zum Nachweis und zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen mittels der Malachitgrünnährböden. (Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 39.)

Die Alveolen waren namentlich in der nächsten Umgebung einzelner Bronchiolen mit einem zelligen Material erfüllt, dessen Kerne intensiv gefärbt waren.

Bei der Untersuchung mit der Oelimmersion sah man in nächster Nähe der durchschnittenen Bronchiolen eine große Anhäufung von epitheloiden Zellen, zwischen denen die Stäbchen F in Unmassen wie in Nestern angeordnet zusammenlagen.

Daneben waren jedoch stets noch andere Bakterien, plumpe coliartige Stäbchen, Diplokokken und einmal lange schlanke Bacillen vorhanden. In den gehärteten Schnittpräparaten der Milz und Leber waren dahingegen nur die Stäbchen F enthalten, wenn auch nicht in solcher Menge wie in den Lungen. Auch in der Milz lagen sie vorzugsweise in Nestern zusammen.

Von den konkomittierenden Bakterien in den Lungen der einzelnen Katzen wurden die Loefflerschen Grünlösungen in typischer Weise verändert.

Die großen Kolonieen auf Blutagar von Katze V vergärten sowohl die Grünlösung I wie die Grünlösung II, sie erwiesen sich danach als zur Gruppe des Bacterium coli gehörig.

Bei Katze IV waren neben dem Stäbchen F hauptsächlich Diplokokken vorhanden und bei zwei anderen Katzen fanden sich kurze plumpe Stäbchen, welche beide Loefflersche Grünlösungen ausfällten. Sie gehörten zu einer Gruppe von typhusähnlichen Organismen, die wegen ihres Verhaltens zu den beiden Grünlösungen von Loeffler mit dem Namen Bacterium typhoides duplex belegt worden sind. Sie unterscheiden sich von dem Typhusbacillus dadurch, daß sie die beiden Grünlösungen in charakteristischer Weise ausfällen, während der Typhusbacillus nur die trauben- und milchzuckerhaltige Typhuslösung, nicht aber die nur Milchzucker enthaltende Paratyphuslösung in dieser charakteristischen Weise verändert.

Bei Katze III wurden Bakterien gefunden, welche die Grünlösung I typisch vergoren, die Grünlösung II aber nicht vergoren, sondern in ihr allmählich einen Umschlag des grünen Farbentones in einen blaßgelben hervorriefen. Sie gehören mithin zu der Gruppe des Paratyphus B und der Fleischvergifter.

Pathogenität.

Um zu beweisen, daß das bei den erkrankten Katzen im Naseneiter, bei der Sektion derselben in den Organen und dem Blute gefundene und auf künstlichen Nährböden gezüchtete Stäbchen F auch der wirkliche Erreger der Seuche war, stellte ich mit demselben eine Reihe von Infektionsversuchen an.

Das Stäbchen F ist für eine Anzahl von Tieren äußerst pathogen. Die Impfversuche erfolgten an 6 Kaninchen, 70 Meerschweinchen, 15 weißen Mäusen, 3 Hunden und 20 Katzen.

Kaninchen starben, mit 1 Oese Reinkultur oder mit 1 ccm Brusthöhlenexsudat der verendeten Katzen intraperitoneal geimpft, innerhalb 24—48 Stunden. Sie zeigen ein von der Impfstelle ausgehendes hämorrhagisches Oedem, das sich über die ganze Bauchdecke erstrecken kann, ferner eine hämorrhagische Peritonitis und einen sehr großen Milztumor.

Außerdem ist bei ihnen stets eine typische hämorrhagische Laryngotracheitis vorhanden, wie sie von Kitt zum ersten Male an Kaninchen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

beschrieben worden ist, die mit Erregern der Wild- und Rinderseuche geimpft worden waren 1).

In der Milz und dem Herzblute konnten sowohl in Ausstrichpräparaten wie in der Kultur die Stäbchen F nachgewiesen werden.

Meerschweinchen werden durch intraperitoneale Impfung von einer kleinen Menge Kultur vom Stäbchen F oder Brusthöhlenexsudat der verendeten Katzen innerhalb 18—24 Stunden getötet und zeigen bei der Sektion das Bild einer allgemeinen Sepsis. Hämorrhagische Infiltration der Bauchdecken, Peritonitis mit sehr viel Exsudat, sehr großem Milztumor und Schwellung sämtlicher Lymphdrüsen. Bei einzelnen Meerschweinchen war außerdem Darmentzündung vorhanden und andere zeigten in den Lungen kleine stecknadelkopf- bis hirsekorngroße hepatisierte Herde.

Die Prüfung der Virulenz der von den verschiedenen Katzen gezüchteten Stämme an Meerschweinchen ergab, daß sie nicht in allen Fällen die gleiche war. Von einer Reihe von Meerschweinchen, mit je 1 Oese je eines Stammes intraperitoneal geimpft, starben die einen innerhalb 18 Stunden, andere erst nach 2, 3 und 4 Tagen.

Von den einzelnen Kulturen des Stäbchens F erwies sich bei dieser Prüfung der Stamm von Katze VIII als am meisten virulent, da das mit 1 Oese Kultur geimpfte Meerschweinchen schon innerhalb 18 Stunden einging. Es wurde deshalb für die weiteren Versuche nur noch dieser Stamm verwendet.

Durch fortgesetzte Meerschweinchenpassage. indem zur Infektion neben der Reinkultur stets noch etwas Bauchhöhlenexsudat der durch denselben Stamm getöteten Meerschweinchen verwendet wurde, gelang es schließlich, die Virulenz des Stäbchens F derartig zu steigern, daß bei Meerschweinchen No. 28 schon $^1/_{1000}$ Oese der Reinkultur bei intraperitonealer Impfung genügte, den Tod innerhalb 18 Stunden herbeizuführen.

Hiermit hatte die Virulenz jedoch noch lange nicht den Höhepunkt erreicht, denn bei den Meerschweinchen No. 65 und 66 war sie derartig hoch geworden, daß die Tiere, welche $^1/_{100000}$ resp. $^1/_{1000000}$ Oese intraperitoneal erhalten hatten, innerhalb 24 Stunden verendeten.

Die Todesdosis lag daher noch weit hinter $^1/_{1000000}$ Oese; wahrscheinlich genügen bei intraperitonealer Impfung schon 1 oder 2 Bacillen, um eine tödliche Infektion herbeizuführen 2).

Gegen subkutane Impfung waren die Meerschweinchen nicht so empfindlich wie gegen die intraperitoneale. Es bildeten sich größere Abscesse an der Impfstelle und die Tiere starben erst nach 6—7 Tagen.

Ein Meerschweinchen, welches $^1/_{10}$ Oese stark virulenter Kultur subkutan erhalten hatte, blieb nach Aufbruch des Abscesses und Entleerung des Eiters am Leben und wurde nach 14-tägiger Krankheitsdauer wieder völlig gesund.

Bei weißen Mäusen konnte durch subkutane Infektion stets innerhalb 12—18 Stunden das Bild einer allgemeinen Sepsis hervorgerufen

---

1) Kitt, Ueber eine experimentelle der Rinderseuche (Bollinger) ähnliche Infektionskrankheit. (Sitzungsber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol. in München, Sitzung vom 10. Nov. 1885; Baumgartens Jahresber. Bd. 2. 1886. p. 143.)

2) Voges, O., Die Differentialdiagnose der verschiedenen in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie gehörigen Mikroorganismen mit Hilfe der spezifischen Serumreaktion. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 31. p. 645.)

werden. Erhielten sie nur 0,2 ccm Bauchfellexsudat vom Meerschweinchen intraperitoneal, so starben sie schon innerhalb 2—4 Stunden.

Auffällig war, wie schon erwähnt, bei den weißen Mäusen in allen Fällen der bakteriologische Befund, da in den Ausstrichpräparaten aus den Organen neben den kleinen, höchstens 0,5 μ langen immer größere bis 1,2 μ lange Stäbchen vorhanden waren.

In den aus dem Mäusekörper angelegten Kulturen waren jedoch stets nur die schon beschriebenen Kolonieen des Stäbchens F vorhanden und in den Präparaten von der Kultur hatten die Stäbchen F alle die gewöhnliche Länge von 0,5 μ.

Für die 3 Hunde war das Stäbchen weniger virulent. Sie vertrugen 2—3 Oesen subkutan oder intraperitoneal. Erhielten sie jedoch 2 Kulturen des durch Meerschweinchenpassage stark virulent gemachten Stammes von Katze VIII intraperitoneal, so starben sie innerhalb 24—36 Stunden und zeigten bei der Sektion dasselbe Bild der allgemeinen Sepsis wie die anderen Impftiere.

Von ganz besonderem Interesse waren natürlich die Impfversuche an Katzen. Deshalb gehe ich etwas näher auf diese Versuche ein und gebe einige Obduktionsberichte ausführlich wieder.

Katze IX.

Junge, ca. $^1/_2$ Jahr alte Katze wurde am 7. Nov. 12 Uhr mittags mit 2 Oesen Kultur von Meerschweinchen No. 28 (Stamm Katze VIII) intraperitoneal geimpft.

Bis zum 12. Nov. gesund, von da an erscheint sie matt und liegt viel.

In den nächsten Tagen magert sie ab und liegt andauernd mit geschlossenen Augen.

Am 20. Nov. morgens tot aufgefunden. Sektion 11$^1/_2$ Uhr morgens. Bauchfell getrübt und mit punktförmigen Blutungen durchsetzt. Milz stark geschwollen. Leber groß und brüchig. Organe der Brusthöhle o. B.

In den Ausstrichpräparaten der Milz Stäbchen F in Reinkultur.

Kulturen aus der Milz Kolonieen von Stäbchen F.

Katze X.

Junge, ca. $^1/_2$ Jahr alte, schwarzweiße Katze erhält am 7. Nov. 12 Uhr mittags 2 ccm Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen No. 25—28, die am Tage vorher mit je 1, $^1/_{10}$, $^1/_{100}$ und $^1/_{1000}$ Oese von Meerschweinchen No. 23 intraperitoneal geimpft und innerhalb 18 Stunden verendet waren, sowie 1 Oese Kultur von Meerschweinchen No. 23 intraperitoneal.

3 Stunden nach der Impfung ist die Katze krank und liegt andauernd. Am 8. Nov. morgens tot. Sektion 11 Uhr morgens.

Bauchfell getrübt und mit Blutungen durchsetzt. Milz stark geschwollen und weich. Leber groß und blutreich. Lymphdrüsen blutig geschwollen. Ausstriche aus Milz und Herzblut Stäbchen F in Reinkultur.

Kulturen aus Milz, Herzblut, Bauchfell Kolonieen aus Stäbchen F.

Katze XVII.

Junge, ca. 7 Monate alte Tigerkatze, am 14. Nov. angekauft. Erhält am selben Tage ein Röhrchen Reinkultur von Katze X und $^1/_2$ ccm Bauchhöhlenexsudat von Meerschweinchen No. 40 intrathorakal.

Am 15. Nov. krank, liegt viel. Am 16. Nov. angestrengte Atmung, 44 Atemzüge in der Minute. Völliger Appetitmangel.

Am 19. Nov. eiteriger Nasen- und Bindehautkatarrh. 56 Atemzüge in der Minute.

Am 22. Nov. Niesen und Husten, sehr schwach, taumelt beim Gehen.

Am 23. Nov. morgens tot. Sektion 12 Uhr mittags.

Starke Abmagerung des Kadavers, Milz sehr groß und geschwollen, Leber getrübt und brüchig.

In der Brusthöhle eiteriges Exsudat, Pleura stark verdickt, trübe und rauh.

In beiden hinteren Lungenlappen viele pneumonische bis hanfkorngroße Herde.

Ausstrichpräparate aus Milz, Herzblut Stäbchen F in Reinkultur; aus dem Brusthöhlenexsudat Stäbchen F überwiegend, dazwischen einzelne schlanke Bacillen.

Kulturen aus Milz und Herzblut Kolonieen Stäbchen F.

Katze XX.

Junge, ca. 7 Monate alte graue Katze, am 14. Nov. angekauft, erhielt am 17. Nov. 1 Röhrchen Kultur von Katze XVIII intrathorakal.

Am 18. Nov. weniger munter.

Am 19. Nov. schwer krank, nimmt keine Nahrung mehr auf. 50 Atemzüge in der Minute.

Am 20. und 21. Nov. über 60 Atemzüge in der Minute, pumpende Bauchatmung.

Am 22. Nov. in tiefem Coma.

Am 23. Nov. morgens tot. Sektion 11 Uhr vormittags.

Stark abgemagerter Kadaver. Milz groß und angeschwollen. Leber groß und brüchig.

Beiderseitige serofibrinöse Pleuritis mit viel Exsudat. Pleura stark verdickt. Trübes Exsudat im Herzbeutel. Im rechten mittleren Lungenlappen viele kleine stecknadelkopf- bis hanfkorngroße pneumonische Herde.

Ausstrichpräparate aus Milz, Brusthöhlenexsudat Stäbchen F.

Kulturen aus Milz, Herzbeutelexsudat, Lunge Kolonieen von Stäbchen F.

In den gehärteten Lungenschnitten wurden bei der mikroskopischen Untersuchung ähnliche Verhältnisse angetroffen wie in den Lungen der an der natürlichen Infektion verendeten Katzen, die Stäbchen F lagen auch hier wie in Nestern in Unmassen zusammen.

Katze XXIV.

Junge, frisch angekaufte, ca. 5 Monate alte gelbweiße Katze erhält am 27. Dez. intratracheal 2 Oesen Kultur von Kaninchen No. 6 vom 14. Dez. 2 Generationen.

Am 28. Dez. ist die Katze krank, liegt andauernd und zeigt angestrengte und beschleunigte Atmung.

Am 29. Dez. zeigt sie pumpende Bauchatmung, 60 Atemzüge in der Minute und eiterigen Nasen- und Bindehautkatarrh.

Der Tod erfolgte am 30. Dez. 9 Uhr morgens in tiefem Coma. Sektion am 30. Dez. 10 Uhr morgens.

Milz stark geschwollen, Leber groß und brüchig. Beiderseitige serös-eiterige Pleuritis mit viel Exsudat. Pleura durch Fibringerinnsel verdickt. Im Herzbeutel trübes Exsudat. Multiple Hepatisation des rechten mittleren Lungenlappens. Der linke mittlere Lungenlappen völlig luftleer und fest.

Ausstrichpräparate aus der Milz Stäbchen F in Reinkultur; aus der Lunge vorwiegend Stäbchen F und Diplokokken.

Kulturen aus der Milz Kolonieen von Stäbchen F.

Katze XXVI.

Junge, frisch angekaufte, ca. 5 Monate alte, schwarz-weißgelbe Katze wird am 28. Dez. durch Inhalation zu infizieren versucht.

Ein Röhrchen Kultur von Meerschweinchen No. 60 wird in steriler Kochsalzlösung verrieben, möglichst fein zerteilt und durch einen Zerstäuber in eine Holzkiste geleitet, in der sich die Katze befindet. Der Deckel der Kiste wird möglichst dicht aufgelegt, so daß die Katze gezwungen ist, die durch den Zerstäuber mit den Stäbchen F beladene Luft in der Kiste einzuatmen.

Am 30. Dez. erscheint die Katze deutlich erkrankt. Sie liegt viel und hat 48 Atemzüge in der Minute.

Am 2. Jan. 09 hat sie über 60 Atemzüge in der Minute und hustet. Außerdem zeigt sich eiteriger Nasenausfluß und Bindehautkatarrh.

Am 4. Jan. morgens tot. Sektion am 4. Jan. 9 Uhr morgens.

Stark abgemagerter Kadaver. Milz stark geschwollen. Leber groß und blutreich. Im rechten mittleren und linken Vorderlappen der Lunge zahlreiche kleine bis hanfkorngroße pneumonische Herde.

Ausstrichpräparate aus Milz und Lunge Stäbchen F.

Kulturen aus Milz und Lunge Kolonieen von Stäbchen F.

Nachdem auf diese Weise durch zahlreiche Impfungen festgestellt worden war, daß es gelingt, mit den Reinkulturen des Stäbchens F Tiere krank zu machen und zu töten, wurde eine Katze mit Filtrat geimpft, um den Nachweis zu erbringen, daß das Filtrat wirkungslos ist.

Die Katze erhielt von Katze VIII 5 ccm Lungenaufschwemmung, die vorher durch das Berkefeld-Filter gegangen waren.

Die Katze bleibt gesund. Die aus dem Filtrat angelegten Kulturen waren steril.

Außerdem wurden 2 Katzen, die schon seit Mai im Zwinger waren, am 13. Nov. mit je 2 und 3 Röhrchen Kultur von Katze X und je $^1/_2$ ccm Bauchfellexsudat von Meerschweinchen No. 39 intraperitoneal geimpft. Die Katzen blieben völlig gesund und zeigten nicht die geringsten Krankheitserscheinungen. Eine andere Katze, die am 17. Nov. auf einmal 4 Röhrchen Kultur vom Meerschweinchen No. 42 und 1 ccm Bauchhöhlenexsudat von Katze XIX intraperitoneal erhalten hatte, erkrankte auf diese hohe Dosis deutlich. Schon am nächsten Tage war sie matt und blieb andauernd, ohne Nahrung aufzunehmen, auf der Streu liegen. Die Augen lagen tief in den Höhlen und die Lider waren durch eiteriges Sekret verklebt.

Nach 8 Tagen hatte sie sich wieder völlig erholt und zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen mehr.

Von dieser Katze wurde am 30. Dez. 08, ca. 4 Wochen nach ihrer Erkrankung, Blut entnommen und das daraus erhaltene Serum auf seine immunisierende Wirkung an Meerschweinchen geprüft. 2 Meerschweinchen erhielten davon je 2 ccm vermischt mit $^1/_{100}$ und $^1/_{1000}$ Oese Kultur von Stäbchen F intraperitoneal.

Beide Tiere starben innerhalb 24 Stunden, ohne daß an ihnen eine Schutzkraft des Serums zu erkennen war.

Wurde dagegen das Bauchhöhlenexsudat verendeter Meerschweinchen durch eine Berkefeld-Kerze filtriert und dann Meerschweinchen einverleibt, so zeigte sich nach 3 Wochen eine deutliche Schutzwirkung.

3 Meerschweinchen, welche je 1, 0,5 und 0,25 ccm Bauchhöhlenfiltrat erhalten hatten, und nach 3 Wochen mit je $^1/_{10}$, $^1/_{100}$ und $^1/_{1000}$ Oese intraperitoneal geimpft wurden, blieben 30—36 Stunden am Leben, während die Kontrolltiere nach $^1/_{100}$ und $^1/_{1000}$ Oese innerhalb 18 Stunden starben.

Daß diese Meerschweinchen trotz der Schutzimpfung starben, kann nur durch die gewaltige Steigerung, welche die Virulenz des Stäbchens F erfahren hatte, erklärt werden, denn die Todesdosis für Meerschweinchen bei intraperitonealer Impfung betrug noch weniger als $^1/_{1000000}$ Oese.

Nachdem dieses später durch einen Versuch festgestellt worden war, wurden nochmals 2 Meerschweinchen, die vorher mit Filtrat behandelt worden waren, mit je $^1/_{100000}$ Oese intraperitoneal geimpft. Sie blieben jetzt gesund, während die Kontrolltiere, welche eine 10mal kleinere Dosis, $^1/_{1000000}$ Oese, erhalten hatten, innerhalb 24 Stunden starben.

Am 12. Jan. 09 wurde nochmals untersucht, ob das Serum der Katze XV eine Schutzkraft für Meerschweinchen besitzt.

2 Meerschweinchen erhielten jetzt je $1^1/_2$ ccm Serum von dieser Katze und $^1/_{1000000}$ Oese von Stäbchen F intraperitoneal.

Die Tiere blieben nun gesund, während ein Meerschweinchen, das zur Kontrolle mit $^1/_{1000000}$ Oese intraperitoneal geimpft worden war, innerhalb 24 Stunden verendete.

Da die genaue Feststellung der Todesdosis noch eine größere Anzahl von Meerschweinchen erfordert hätte, wurde von weiteren Immunisierungsversuchen abgesehen. Jedenfalls aber haben diese Versuche gezeigt, daß es gelingt, Meerschweinchen gegen das Stäbchen F zu immunisieren.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Uebersicht.

Durch die Tierexperimente ist wohl zur Genüge bewiesen, daß das Stäbchen F der Erreger der Katzenseuche ist, denn es ist zweifelsohne gelungen, durch intraperitoneale Verimpfung der Reinkultur Katzen krank zu machen und zu töten und durch Inhalation, durch intratracheale und intrathorakale Einverleibung eine Lungen- oder Lungenbrustfellentzündung hervorzurufen, derjenigen ähnlich, an welcher die spontan eingegangenen Katzen erkrankt waren.

Besonders zu betonen ist, daß in erster Linie junge Katzen für den Erreger empfänglich waren, während ältere Tiere sowohl der spontanen wie der künstlichen Infektion gegenüber eine gewisse Resistenz zeigten.

Nach seinem morphologischen und biologischen Verhalten muß das Stäbchen F, der Erreger der beschriebenen Katzenseuche, in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie oder der sogenannten Pasteurellosen eingereiht werden.

Lignières, welcher die letzte Bezeichnung vorgeschlagen hat, charakterisiert die Gruppe der Pasteurellosen folgendermaßen[1]: „Es sind unbewegliche, sehr polymorphe und involutionsfähige Coccobacillen, welche Gelatine nicht verflüssigen, Milch nicht zum Gerinnen bringen, ebenso ihre Reaktion nicht verändern, keine sichtbare Kultur auf der natürlich sauren Kartoffel geben, keine Indolbildung zeigen, keine Sporen bilden und keine Geißeln besitzen."

Das Stäbchen F weicht nur in einer einzigen Beziehung von den Forderungen, die Lignières stellt, ab und zwar dadurch, daß es Indol bildet. Doch lauten die Angaben der Forscher über die Indolbildung bei den Bakterien der hämorrhagischen Septikämie einander widersprechend, und Günther stellte bei einer eigenen Prüfung an einem typischen Stamm die Indolbildung fest[2].

Auf der Kartoffel wuchs das Stäbchen F nur dann, wenn Blut oder Milzsaft mitausgestrichen wurde, fehlte dieses Nährmaterial, so blieben die besäten Kartoffeln ebenfalls steril.

Daß das Stäbchen F mit dem von Marx beschriebenen Erreger der Pneumonie eines Königstigers identisch ist, läßt sich nicht nachweisen, da beide Abweichungen in ihrem Verhalten zeigen; jedenfalls aber sind sie nahe miteinander verwandt.

Während das Marxsche Stäbchen zuerst nur auf Blutagar wuchs, also absolut hämophil war, und sich erst später in der 4. Generation auf gewöhnlichem Nähragar züchten ließ, gedieh das Stäbchen F von vornherein auf Agar, allerdings war die Entwickelung auf Blutagar sehr viel üppiger und kräftiger, als auf dem gewöhnlichen Nähragar. Ferner wuchsen die Marxschen Stäbchen auf Loeffler-Serum als schlanke, tuberkelbacillenähnliche, meist 2 μ lange Bacillen, während das Stäbchen F auf Loeffler-Serum seine gewöhnliche Länge von 0,5 μ beibehielt.

Schließlich weicht das Stäbchen F auch noch von dem Marxschen Stäbchen dadurch ab, daß es Indol bildete, während das letzte diese Reaktion nicht zeigte.

---

[1] Lignières, Contribution à l'étude et à la classification des septicémies hémorrhagiques. (Laboratoire de l'Association des Hacendalos.) Buenos Aires 1900.

[2] Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 1906. p. 608.

Schlußbetrachtung.

Es ergeben sich aus dem Vorstehenden folgende Schlußfolgerungen:

1) Aus allen an der beschriebenen Seuche verendeten Katzen konnte ein und dasselbe ovoide Stäbchen isoliert und gezüchtet werden.

2) Dieses Stäbchen gehört nach seinem morphologischen, biologischen und kulturellen Verhalten in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie.

3) Weil mit diesem Stäbchen durch Inhalation, durch intratracheale und intrathorakale Impfung bei Katzen eine Pneumonie resp. eine Pneumopleuritis hervorgerufen worden ist, muß es der Erreger der Katzenseuche sein.

Der bisher als Stäbchen F bezeichnete Mikroorganismus kann nach seinem Fundort als „Bacterium pneumoniae felis“ benannt werden.

Zum Schlusse spreche ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Loeffler, dem ich die Anregung zu dieser Arbeit verdanke, für sein stets reges Interesse, seine freundliche Belehrung und Unterstützung meinen herzlichsten Dank aus.

Auch ist es mir eine angenehme Pflicht, den Assistenten des Hygienischen Institutes, Herren Dr. E. Walter und Dr. E. Dibbelt, für ihre die Technik betreffenden Winke und Ratschläge zu danken.

Literatur.

Friedberger-Froehner, Lehrbuch der speziellen Pathologie und Therapie. 1900.

Günther, Einführung in das Studium der Bakteriologie. 1906.

Kitt, Lehrbuch der pathologischen Anatomie der Haustiere. 1901.

— —, Ueber eine der experimentellen Rinderseuche ähnliche Infektionskrankheit. (Baumgartens Jahresber. Bd. 2. 1886.)

Lignières, Contribution à l'étude et à la classification des septicémies hémorrhagiques. (Laboratoire de l'Association des Hacendalos.) Buenos Aires 1900.

Loeffler, Rühs, K. u. Walter, E., Die Heilung der experimentellen Nagana (Tsetsekrankheit). (Dtsche med. Wochenschr. 1908.)

Loeffler, Neue Verfahren zur Schnellfärbung von Mikroorganismen, insbesondere der Blutparasiten, Spirochäten, Gonokokken und Diphtheriebacillen. (Dtsche med. Wochenschrift. 1907.)

— —, Zum Nachweise und zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen mittels der Malachitgrünnährböden. (Ibid. 1907.)

Marx, Der Erreger der Pneumonie eines Königstigers. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908. p. 581.)

Voges, O., Die Differentialdiagnose der verschiedenen in die Gruppe der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie gehörigen Mikroorganismen mit Hilfe der spezifischen Serumreaktion. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 31.)

Nachdruck verboten.

Die luetische Infektion in der Schwangerschaft und ihre Bedeutung für das Vererbungsproblem der Syphilis.

Nebst Bemerkungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion.

Von Dr. **Hans Bab** (Berlin).

Mit 1 Figur.

Die postkonzeptionelle Syphilis hat für die Frage nach dem Modus der Uebertragung der Lues von den Eltern auf das Kind deswegen eine eigenartige Bedeutung, weil sie den einzigen Fall darstellt, in welchem wir zweifelsohne die noch strittigen und noch in Diskussion stehenden Modi einer spermatischen paternen oder einer ovulären maternen Syphilisübertragung ausschließen können. Nicht der germinale, nur der placentare Modus kann hier in Frage kommen.

Mit einer kleinen Einschränkung: In der Zeit zwischen befruchtendem Coitus und der Imprägnation des Eies wäre auch eine germinale Infektion noch denkbar. Vergegenwärtigen wir uns die Sachlage: Durch einen bald nach Beendigung der Menstruation vollzogenen Beischlaf gelangt das später für die Eiimprägnation in Betracht kommende Sperma in die Tuben und kann sich in diesen tage-, ja selbst wochenlang funktionsfähig erhalten, bis das freiwerdende Ovulum der nächsten Ovulationsperiode in diese spermahaltigen Tuben aufgenommen und in ihnen befruchtet wird. (Vgl. meine Studie über: „Konception, Menstruation und Schwangerschaftsberechnung“. Dtsch. med. Wochenschr. 1908. No. 33.) Durch eine zweite Kohabitation innerhalb dieser Zeit, sei es mit einem anderen, und zwar luetischen Manne, sei es mit dem gleichen Manne, wenn bei ihm inzwischen Luessymptome an den Genitalien zum Ausbruch gekommen sind, könnten nachträglich Spirochäten in das Innere der weiblichen Genitalien gelangen und das Ovulum in der Tube kurz vor oder kurz nach der Imprägnation infizieren oder auch erst im Uterus von der Decidua aus während resp. gleich nach der Eiansiedelung. Da in praxi jedoch nur sehr selten und nur bei verschiedenen Männern feststellbar wäre, ob Sperma des ersten oder Sperma des zweiten Coitus zur Imprägnation gelangt ist, so wird man derartige Ausnahmefälle wohl eher unter die Rubrik gleichzeitiger Schwängerung und Infektion einreihen.

Trotz der Einfachheit der Sachlage bei der postkonzeptionellen Infektion haben jedoch auch über sie Streitigkeiten genug geherrscht, und die Anschauungen der Forscher vielfach gewechselt.

Dies schreibt sich vor allem daher, daß mit ihr die Frage nach der Immunität von Kindern syphilitischer Eltern eng verknüpft ist, und weiter, daß es noch unentschieden ist, ob wir zur postkonzeptionellen Infektion auch die Fälle rechnen sollen, bei denen der Vater bereits im Moment der Zeugung syphilitisch war, oder ob wir fordern müssen, daß beide Eltern zur Zeit der befruchtenden Kohabitation noch gesund waren. Eine solche Forderung hätten wir nur zu stellen, wenn wir die Möglichkeit einer paternen Luesübertragung anerkennen. Die Lues in der Gravidität kann ferner nicht nur, wie meist, eine manifeste sein, sondern kann auch unter dem Bilde einer latenten Syphilis der Frau auftreten, wie ich an einem Falle zeigen konnte (vgl. Fall No. 1 der Tabelle). So spiegeln sich auch hier die drei großen Probleme der Luesimmunität, der germinativen Luesübertragung und der Lueslatenz wieder.

Weiter kann sich die postkonzeptionelle Infektion mit Zwillingsschwangerschaft kombinieren und mit Erkrankung eines Zwillings, wobei dann die Frage der Superfoecundatio mit hineinspielt. Die Ueberlegung, wann eine postkonzeptionelle Infektion noch eine Erkrankung der Frucht zur Folge hat, führt uns in das interessante Gebiet, wie lange Zeit die Krankheit zum Uebergreifen vom mütterlichen auf den kindlichen Organismus benötigt, und wie lange es dauert, bis die einzelnen Symptome der hereditären Syphilis in Erscheinung treten können, der Visceralsyphilis, der Osteochondritis, der Coryza und der Exantheme. Und das leitet wieder zur tardiven Syphilis und zum Tertiarismus d'emblée hinüber.

Es ist bisher wohl noch nicht darauf hingewiesen worden, wie ungeheuer rasch die Lues im Foetus sich ausbreiten und zum Tode führen kann. Ein Beispiel gibt mein Fall Brch. (No. 6 der Tabelle). Circa 8 Wochen nach der postkonzeptionellen Infektion der Mutter wurde im 6. Monat das Kind totgeboren. Es enthielt Spirochäten und Wassermannsches Antigen. Rechnet man 6 Wochen für die Spirochäten, um ins Placentarblut zu gelangen, so hat eine 14-tägige Lues die Frucht getötet. Immerhin war eine spermatische Infektion nicht ganz sicher auszuschließen. Aber auch in den Fällen No. 4, No. 2, No. 1 der Tabelle gebrauchte die fötale Lues nur 4, 7 und 10 Wochen, um den Tod herbeizuführen.

Es drängt sich uns in jedem Fall von Luesinfektion in der Schwangerschaft auch die Frage auf, inwieweit und inwiefern die Placenta Schutzkraft für das Kind besitzt, wie die Details des placentaren Uebergangs der Erkrankung sind, in welcher Weise die Spirochäten und ihre Stoffwechselprodukte, etwaige Toxine, Antigene und Antikörper auf die Frucht übergehen, und über welche Abwehrmaßregeln der fötale Organismus verfügt. Beachtenswert erscheinen dann auch die keineswegs immer klargelegten näheren Todesursachen postkonzeptionell infizierter Früchte einerseits, die oft auffallend und merkwürdig gute Entwickelung verschont gebliebener Kinder andererseits, beachtenswert auch die wechselnden pathologischen Befunde an der Placenta. Berücksichtigen wir schließlich noch die therapeutische Beeinflussung der postkonzeptionellen Lues, den Versuch, das Kind vor der Erkrankung zu schützen oder seine bereits erfolgte Erkrankung schon intrauterin zu bessern, so haben wir genug Punkte, welche die zunächst so einfach ausschauende Sachlage komplizieren und zu Kontroversen Anlaß bieten.

In der Tat hat es an Meinungsdivergenzen auch auf diesem Sondergebiet der Syphilislehre nie gefehlt. Zunächst hat man das Vorkommen einer postkonzeptionellen Fruchtinfektion überhaupt bestritten, man hielt die Placentarscheide für absolut undurchlässig (v. Bärensprung, Behrend, Dohrn, Geigel, Mandon, Szadek und eine Zeitlang Kassowitz).

Noch 1898 lesen wir in Ahlfelds Geburtshilfe: „Auch das syphilitische Gift geht nicht von der Mutter durch die Placentarscheidewand hindurch auf den Foetus über und umgekehrt, d. h. war die Mutter zur Zeit der Konzeption gesund, wurde sie von einem nicht luetischen Manne geschwängert, wurde sie dann erst nach stattgehabter Konzeption infiziert, so ist das Kind bis zur Geburt nicht luetisch. Es sind wohl einzelne Fälle in der Literatur mitgeteilt worden, die Ausnahmen dieses Satzes bringen, doch scheinen sie mir nicht genügend anamnestisch sicher zu sein.“ Die postkonzeptionelle plazentare Fruchtinfektion mußte naturgemäß auch von den allerdings vereinzelten Forschern geleugnet werden, die den spermatischen Modus als allein in Betracht kommend ansahen (Bednar, Swedianer, Mayer).

Heute ist ein solches Vorkommnis nicht mehr zweifelhaft. Das Verdienst, für die Anerkennung dieses Typus eingetreten zu sein, gebührt Caspary, Chabatier (1864), Cullerier, Engel, Frank, Hiridoyen, Hudson, Lewin, Merin (1874), Mijnlief, Neumann, Oewre, v. Vajda (1880), v. Zeissl. Die erste Publikation eines einschlägigen Falles gab wohl Doepp 1839, die genaueste mit sorgfältigster Beobachtung und Angabe fast aller in Betracht kommender Daten Lesser (Charitégesellschaft 19. Dez. 1907).

Nach Anerkennung des Infektionsmodus ging der Streit um die Begrenzung der Zeit, in der die Lues von der Schwangeren noch auf das Kind übergehen könne. Cullerier und Oewre vertreten die extreme Ansicht, in jedem Graviditätsmonat führe die Infektion auch zur Fruchterkrankung; Bidencap, Köbner, Ricord, Zeissl glaubten das Kind besonders in den ersten Zweidritteln der Gravidität, Beyer und v. Rosen dagegen in den letzten zwei Dritteln der Gravidität gefährdet. Biélinkin behauptete, in den letzten 3 Monaten werde die Lues nicht mehr übertragen.

Heute ist eine Klärung dieses Punktes dahingehend erreicht, daß das Kind bei Infektion in den letzten $1\frac{1}{2}$ Monaten nicht mehr betroffen werde, da die Spirochäten allein 6 Wochen circa gebrauchen, um ins mütterliche Blut zu gelangen (Hoffmann). Daß, abgesehen von dieser letzten Zeit, jedoch während der ganzen Gravidität ein Uebergang der Lues auf die Frucht möglich sei, und zwar im allgemeinen um so sicherer, schwerer und eher sich manifestierend, je früher die Mutter infiziert worden ist. Von diesem Satz gibt es jedoch recht prägnante Ausnahmen, wie Fall Kos. (No. 13 der Tabelle) zeigt. Trotzdem die Mutter schon im 3. Monat infiziert wurde, trug sie das Kind völlig aus. Dasselbe wurde, 52 cm lang und 3560 g schwer, anscheinend völlig gesund geboren.

Erfolgt die postkonzeptionelle Infektion sehr spät, so kann das Kind post partum Luessymptome an sich tragen, bevor die Sekundärsymptome bei der Mutter aufgetreten sind.

Der Zeitintervall von 6 Wochen für das früheste Uebergehen von Spirochäten der Mutter auf das Kind post infectionem ermöglicht nun noch eine andere eigenartige Kombination der in Frage kommenden Vorgänge: Es kann nämlich die Frau etliche Tage oder sogar einige Wochen vor dem befruchtenden Coitus von einem anderen Mann infiziert worden sein, und doch wird das befruchtete Ei erst postkonzeptionell infiziert.

Es folgte die Aufrollung der Frage, ob ein anscheinend gesund geborenes Kind einer postkonzeptionell Infizierten immun oder latent luetisch oder gesund und unbeteiligt sei. Gegen die Profetasche, von Diday erweiterte Regel, für welche Anning, Bärensprung, Behrend-Knoblauch, Finger, Grünfeld, Haveling, Köbner, Rosner, Weil u. a. Beispiele beibrachten, machten vor allem Glück, v. Dühring, Neumann Front, neuerdings Bauer, während Preisich an einer passiven Immunisierung des Kindes im Profetaschen Fall festhält. Entschieden ist dieser Streitpunkt noch nicht. Gegner dieser Profeta-Didayschen Regel müssen auch alle die sein, welche mit Neisser neuerdings eine Immunität bei der Lues überhaupt leugnen. Die Möglichkeit einer solchen habe ich kürzlich im Centralblatt für Gynäkologie diskutiert (1909, No. 15: „Das Problem der Luesübertragung auf das Kind und die latente Lues der Frau im Lichte der modernen Syphilisforschung"). Auf diese Ausführungen sei hier verwiesen. Hinzugefügt sei heute nur, daß auch Honders Beobachtungen über die in Bosnien endemische Lues für die Möglichkeit einer Immunisierung ins Feld geführt werden können, und daß auch eine neuere „Colles-Ausnahme" noch der Widerlegung harrt, also für einen paternen Modus und mütterliche Immunität ins Gewicht fällt: Fall G. Novy: Gesund scheinende Mutter akquiriert nach Geburt zweier luetischer Kinder beim Stillen des zweiten Kindes einen Primäraffekt an der Brustwarze. Betont sei hier aber auch, daß wenn ein Kind nach Profeta-Diday tatsächlich Immunität von der Mutter erwerben könne, diese doch höchstwahrscheinlich nur sehr flüchtiger Natur sein und allenfalls dann etwas länger anhalten dürfte, wenn es gestillt wird und aus der Muttermilch (was ebenfalls sehr zweifelhaft geworden) immunisierende Substanzen beziehen könnte. (Vgl. Ehrlichs Ammentierversuch.) Fälle, die von Luesinfektion monate- oder jahrelang post partum berichten, können also nicht als „Profeta-Ausnahmen" gelten. Etwa Neumanns Fall einer im 7. Monat postkonzeptionell Infizierten, die ihr Kind, das bei ihr im Bette schläft, nachdem der Knabe 7 Monate alt geworden ist, durch nässende Genitalpapeln mit Sklerose am Nabel und typischer Lues affiziert. Oder v. Dührings Schulendemieen. In Betracht kommen nur Infektionen der ersten Lebenstage oder die „Infektion en passage" bei postkonzeptionell infizierter Mutter, Vorkommnisse, die Fournier überhaupt ganz in Abrede stellt. Die Infektion sub partu dürfte allerdings keinesfalls so häufig sein, wie Gräfenberg annimmt, der die Coryza auf Aspiration infektiösen Schleims in den Geburtswegen zurückführen will. Die Seltenheit der Infektion en passage schreibt Engel-Reimers lediglich dem mechanischen Schutz der Vernix caseosa zu.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Häufig wird dagegen das gesund scheinende Kind als latent luetisch entlarvt werden können, weit häufiger als man bisher dachte, und so gewinnt Fouquets Forderung an Berechtigung, prinzipiell jedes Kind syphilitischer Eltern spezifisch zu behandeln.

Folgendes sind die neuen Hilfsmittel, die uns eine derartige Entlarvung ermöglichen:

1) Spirochätennachweis in der Nabelschnur (nach Gräfenberg möglichst dicht am Hautnabel vorzunehmen).
2) Wassermannsche Reaktion (positiver Ausfall) des Nabelschnurblutes.
3) Leberpunktion mit feinster Kanüle (nach Gräfenberg) zum Spirochätennachweis.
4) Nasensekretuntersuchung auf Spirochäten.
5) Wassermannsche eventuell wiederholt geprüfte Reaktion (positiver Ausfall des kindlichen Blutes). Lehrreiche Paradigmata gibt Wechselmann (Dtsch. med. Wochenschr. 1909. No. 15).
6) Röntgen-Diagnose der Osteochondritis syphilitica nach dem Vorgang von Reyher (Berliner klin. Wochenschr. 1908. p. 1423).
7) Bei Exitus Antigennachweis und Spirochätennachweis in den kindlichen Organen, Antistoffnachweis in den Körperflüssigkeiten.

Daß auch bei einer nach dem Profetaschen Typus erfolgten Geburt der negative Ausfall der Wassermannschen Reaktion des kindlichen Blutes zu keinerlei Schlüssen berechtigt, braucht nicht weiter betont zu werden. Zwar geben nach Michaelis und Lesser Fälle hereditärer Lues meist besonders starke Reaktionen, auf der anderen Seite aber konnte Rudolf Müller (Wiener klin. Wochenschrift. 1908. No. 9) zeigen, daß sowohl das Serum von Frauen trotz häufiger Aborte und Frühgeburten bei Lues des Mannes keine Reaktion auf Lues zu zeigen braucht, als auch daß trotz positiv reagierenden Serums der luetischen Mutter das Serum der Kinder negativ reagieren kann. Bauer fand 6mal negativ reagierende Kinder bei positiv reagierenden Müttern. Eine gleiche Beobachtung publizierte Mühsam, doch lag in seinem Fall spezifische Behandlung des Kindes vor. Wechselmann, Halberstädter, Müller und Reiche sahen die negative Reaktion der Kinder sich in positive umwandeln. Aus dem negativen Ausfall dürfen wir weder auf Lueslatenz noch auf Luesimmunität noch auf Gesundheit schließen. Die biologische Methode sagt uns nur etwas, wenn und so lange sie ein positives Resultat zeitigt.

Wie der negative Ausfall der Komplementreaktion, so kann auch das erfolglose Suchen nach Spirochäten keinerlei irgendwie geartete Beweiskraft beanspruchen. Konnte ich doch bereits in meiner Arbeit über „Bakteriologie und Biologie der kongenitalen Syphilis“ (Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. 60) an 9 Fällen von Luesgeburten bei sicherer Lues in der Aszendenz, darunter auch ein Fall postkonzeptioneller Infektion der Mutter (vgl. Fall Mchl. No. 4 der Tabelle), völliges Fehlen der Spirochäten zeigen, obgleich jedesmal 5—10 Organe untersucht wurden (5 Totgeburten, 4 lebend Geborene und nachher Gestorbene); 2 dieser Fälle wurden auch biologisch untersucht: Ihre Organe erwiesen sich als antigenfrei. In einem weiteren Fall (Beiträge zur Bakteriologie der kongenitalen Syphilis. Münchener med. Wochenschr. 1907. No. 46) fehlten Spirochäten in Placenta, Nabel-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

schnur und 15 untersuchten Organen; die Organextrakte enthielten kein Antigen, wohl aber die Ascitesflüssigkeit Antistoffe. Spirochäten können also in einem durch die Lues der Mutter zugrunde gegangenen Kinde fehlen. Ob sie sich vereinzelt doch an verborgenen Stellen finden, ob sie zerfallen sind, sei es durch Hg-Kuren, sei es in irgendeinem Zusammenhang mit dem Auftreten Wassermannscher oder noch anderer unbekannter Antistoffe, ob sie sich in noch nicht gefundene Dauerformen umgewandelt haben, oder aber ob das Kind nur durch Intoxikation oder durch Erstickung infolge Placentaerkrankung zugrunde geht oder etwa den Hofbauerschen „Cholesterintod“ stirbt unter Präzipitierung des placentaren und fötalen Lecithin seitens der luetischen Stoffe des mütterlichen Blutes (Berliner klin. Wochenschr. 1908. No. 47) — das bleibe dahingestellt. Jedenfalls verrät der Mangel an Spirochäten im lebenden oder im toten Kinde einer postkonzeptionell Infizierten uns nicht, ob dieses Kind latent luetisch oder luesfrei oder luesimmun ist.

Die Kinder postkonzeptionell Infizierter, welche eine latente, nur mit den obengenannten feineren Methoden diagnostizierbare Lues in utero akquiriert haben, bilden wahrscheinlich das Hauptkontingent der tardiven Lues, die sich erst im späteren Kindesalter oder gar erst beim Erwachsenen manifestiert. Auch die Annahme, daß Paralyse und Tabes als Abschluß des verborgenen Leidens auftreten kann, liegt nahe. Die Psychiater sollten ihr Augenmerk darauf richten und uns darüber belehren, ob nicht gerade unter jenen selteneren Paralytikern und Tabikern, welche in ihrer Anamnese keine manifeste Lues aufweisen, vielfach solche sind, die nach dem Profetaschen Typus geboren wurden, oder auch Frauen, die nach dem Collesschen Typus geboren haben.

Chr. Müller publizierte kürzlich 3 Fälle von Paralyse, 42, 43 und 53 Jahre alter Leute, bei welcher er die Erkrankung auf kongenitale Lues zurückführen zu müssen glaubt. Erwähnt sei, daß juvenile Paralysen auch nach Trauma zum Ausbruch kommen können, deren letzte Ursache doch in einer kongenitalen Lues zu suchen ist.

Eine latente Lues und ebenso eine Luesimmunität des Kindes würde sich durch eine Bestätigung der Profetaschen Regel, durch „Nichtansteckbarkeit“ erweisen, d. h. das Kind würde weder durch das Passieren eines infektiösen Geburtskanals, noch in den ersten Wochen durch Saugen an einer infektiösen Brustwarze einen Primäraffekt akquirieren. Wir können als „Profeta-Fälle“ jedoch nur diejenigen ansehen, bei denen keine Infektion eintritt, obgleich nachgewiesenermaßen das Kind Gelegenheit zur Infektion hatte, z. B. wenn ein anderes Kind an Papeln derselben Brustwarze sich tatsächlich infiziert.

Daß eine latente Lues die Nichtinfizierbarkeit („Umstimmung“) bedingt, wäre in der oben geschilderten Weise zu ermitteln.

Für die Entscheidung der Frage, ob die luetisch gewordene Schwangere imstande ist, dem Kind schützende Immunstoffe auf dem Placentarwege zu liefern, habe ich in meiner Arbeit im Centralblatt für Gynäkologie, 1909, No. 15, ein Tierexperiment an Affen und Kaninchen vorgeschlagen.

Die placentare Uebertragung von Immunstoffen der Mutter auf das Kind ist in der Pathologie nichts Außergewöhnliches. Allerdings betreffen die einschlägigen Beobachtungen wohl nur Experimente, bei denen das Muttertier künstlich immunisiert wurde. Chauveau (1888) fand die Jungen von Schafen, die gegen Milzbrand immunisiert waren, ebenfalls immun. Andererseits sind beim Milzbrand (und auch bei Recurrens) des Menschen auch einzelne postkonzeptionelle Infektionen beobachtet worden (R. Albrecht, Petersburger med. Wochenschr. 1880. No. 18). Den

Chauveauschen analoge Resultate hatten **Arloing**, **Cornevin**, **Kitasato** (1892), **Thomas** bei Rauschbrand, **Klemperer** bei Pneumokokken, **Burchardt** bei Schafpocken, **Ehrlich** und **Hübener** bei Tetanus, **Wernicke** bei Diphtherie. Immunität kann durch Placenta und Milch, nicht aber durch Sperma und Ovulum übertragen werden. Den placentaren Uebergang von Agglutininen stellte **Dieudonné** fest, von Präzipitinen **Merkel**, von Antitoxinen **Klemperer**, **Dzierzgowski** und **Polano**, von hämolytischen Ambozeptoren **Kraus** und **Morgenroth**.

Infiziert sich das Kind der in der Schwangerschaft luetisch gewordenen Mutter sub partu oder in den ersten Tagen seines Lebens (wobei eine Verwechselung mit Symptomen hereditärer Syphilis ausgeschlossen sein muß), so erweist der Primäraffekt die vorherige Gesundheit des Kindes, sein Unbeteiligtsein an der mütterlichen Erkrankung, die Undurchlässigkeit der Placentarscheide für die Spirochäte in dem betreffenden Fall.

Nimmt man die Möglichkeit einer Immunisierung des Kindes an, sei es einer aktiven nach Uebergang von Toxinen, sei es einer passiven durch Uebergang mütterlichen Immunstoffes, so ließen sich die Profeta-Ausnahmen nur durch Unvollständigkeit der Immunisierung deuten.

Mit der Frage der Immunität bei Lues verquickte sich der Streit, ob der bei der postkonzeptionellen Syphilis sicher vorhandene placentare Uebertragungsmodus überhaupt der einzig mögliche sei, während ein germinativer, speziell paterner nicht anerkannt werden könne, eine Frage, die wir bereits eingangs erwähnten, auch entscheidet, ob wir bei der Hinzurechnung von Fällen zur postkonzeptionellen Luesinfektion nur auf den Status der Mutter und nicht auf den Status des Vaters zur Zeit der Zeugung Rücksicht zu nehmen haben. Die Immunisierung der Frau, die nach dem Colles-Baumès schen Typus anscheinend gesund ein syphilitisches Kind gebiert, durch eben dieses Kind ist nur vorstellbar unter der Voraussetzung, daß das Kind ex patre luetisch ist. Auch dieser Streit ist unentschieden. Nachdem schon früher Augagneur, Beyer, Boulengier (Presse méd. Belge. 1894), Charier, Cullerier, Follin, Hufeland, Langleber, Lewin, Notta, Oewre, Roth, Sigmund, Sturgis, Vassal, Wolff ihre Stimme gegen den paternen Modus erhoben hatten, wandte sich 1903 Matzenauer besonders nachdrücklich und temperamentvoll gegen die Uebertragung durch das Sperma, ohne jedoch allzuviel Zustimmung in der umfangreichen Diskussion zu finden. Ihm schloß sich 1904 Napp, 1908 Jadassohn an.

Der Standpunkt „keine hereditäre Lues ohne luetische Mütter", der auch von einigen vertreten wurde, ist damit nicht einfach zu identifizieren, denn er läßt die Möglichkeit einer paternen Uebertragung und Luesinfektion der Schwangeren durch das getragene Kind (Choc en retour) offen. Finger hält den placentaren Modus für selten, weil bei postkonzeptioneller Infektion so häufig ein gesundes Kind geboren werde, trotzdem doch gerade die rezente Lues der Mutter sonst fast stets auf das Kind übertragen wird. Kassowitz betont nachdrücklich dieses Versagen der Uebertragung bei allgemeiner Lues der Mutter. Ebenso vertreten neuerdings Mohn (Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. 1907) und Gräfenberg (Arch. f. Gynäkol. Bd. 87. H. 1) auf Grund von Spirochätenuntersuchungen im strikten Gegensatz zu Matzenauer den Standpunkt, daß für gewöhnlich die Spirochäten vom Foetus auf die Placenta, nicht aber von der Placenta auf den Foetus übergehen[1]. Ich glaube nicht, daß sich das mit der allgemeinen Erfahrung der

---

[1] Während der Drucklegung dieser Arbeit wird mir von Hans Rietschel eine Studie „Ueber den Infektionsmodus bei der kongenitalen Syphilis“ (Med. Klinik. 1909. No. 18) freundlichst übersandt. Dieselbe ist dadurch besonders interessant, daß er mit Gräfenberg die Häufigkeit der Infectio sub partu betont (meines Erachtens wohl überschätzt), aber, diesem diametral entgegengesetzt, sich zu Matzenauers Anschauungen bekennt, und mit den Worten schließt: „Eine paterne kongenitale Uebertragung der Syphilis gibt es nicht.“ Rietschel stützt sich in seiner Argumentation in erster Linie „auf eines der interessantesten Phänomene bei der kongenitalen Lues der Säuglinge, daß der größte Teil der Kinder scheinbar ganz gesund zur Welt kommt“, und daß dieselben erst zwischen der 4. und 8. Woche p. p. manifest krank werden. Diese lange Latenzzeit sei besonders bei Kindern solcher Mütter vorhanden, „bei denen wir klinisch nicht die Lues nachweisen können, resp. bei denen die Luesinfektion schon viele Jahre zurückliegt.“ Zur Erklärung hierfür nimmt R. an, daß das Kind erst intra partum von der Placenta aus infiziert werde, und daß die Länge der Latenz u. a. von dem Quantum des infizierenden Virus abhänge; er folgert, alle Mütter luetischer Kinder müßten syphilitisch sein, Kinder dürften in der Latenzzeit keine positive Luesreaktion geben, Mütter syphilitischer Kinder geben „in fast 100 Proz.“ die Wassermannsche Reaktion. Auch gegen diese gewiß beachtenswerten Ausführungen wird sich kritisch manches einwenden lassen!

Zunächst muß dem widersprochen werden, daß im größten Teil der Fälle hereditärer Lues ein mehrwöchentliches Latenzstadium zur Beobachtung kommt. Mag das auch oft vorkommen, meist werden die Kinder entweder schon ante partum absterben oder aber post partum Luessymptome aller Art (z. B. Pemphigus, Erscheinungen von seiten der Viscera) zeigen. In Hochsingers 65 Fälle umfassender Statistik (Handb. d. Kinderheilk. I. 2) war 38mal die Coryza angeboren, 5mal trat sie 1 Woche p. p. auf, nur 2mal 4 Wochen p. p. — Andererseits, wenn R. sagt: „es ist nicht denkbar, daß der Lueskeim im Säugling latent bleiben soll, und erst später anfängt, sich zu vermehren“, so sei an die Lues hereditaria tarda erinnert, die erst nach Jahren manifeste Symptome macht. Sicherlich können eben Spirochätenherde in inneren Organen und im Knochen wochen-, monate-, ja selbst jahrelang lokalisiert bleiben, ohne durch klinische Erscheinungen hervorzutreten. Wie dem aber auch sei, und auch wenn R.s Vorstellung von der placentaren Infectio sub partu richtig ist, so wird damit doch nur der Infektionsmodus einer bestimmten Gruppe charakterisiert, und eine Verallgemeinerung desselben für alle Fälle hereditärer Lues wäre ohne zwingende anderweitige Gründe keineswegs angängig. Und weiter: jede Gebäranstalt wird Frauen sehen, die trotz älterer Lues oder trotz Mangels jeglicher Luessymptome (Collesscher Typus) Kinder gebären, welche gleich p. p. ohne jede Latenz Lueszeichen tragen. Hierfür kurz einige, beliebig herausgegriffene und selbstbeobachtete Beispiele: In einem Fall von 7-jähriger und in einem anderen von wahrscheinlich 11-jähriger Dauer waren in den totgeborenen Kindern Spirochäten nachweisbar, bei letzterem auch Pemphigus, Petechien, Anasarka vorhanden. Vgl. auch den Fall H., den ich im Centralbl. f. Gynäkol., 1909, No. 15 publizierte: Infektion 1902/03. 5. Aug. 1907 Geburt eines mazerierten Kindes. Milzschwellung. Ascites. Spirochäten +. Antigen +. Mutter symptomlos.

Und Beispiele des Collesschen Typus:

Fall Suck.: 1901, 1902, 1903 Aborte im 4. und 5. Monat. 4. Okt. 1906 Geburt im 7. Monat. Seit 14 Tagen keine Kindsbewegungen. Leistendrüsen verdickt, sonst keine Symptome. Lues negatur. Leber, Milz, Nebennieren des Kindes enthalten ungeheure Spirochätenmassen; sehr starker Antigengehalt der Leber und Milz.

Fall Fitz.: Mann 1903 Ulcus durum. Frau angeblich immer gesund. 15. Mai 1906 Totgeburt VI mens. 16. Mai 1907 mazerierte Totgeburt. Spirochäten +. Antigen +.

Fall Schul.: Lues negatur. Symptomlos. Febr. 1906 1. Partus. Frühgeburt, von einem anderen Vater. 19. März 1907 2. Partus: Kind stirbt 2 Min. p. p. Pemphigus luet. Harter, aufgetriebener Leib. Milz und Leber geschwollen. Hämorrhagieen der Lungen. Spirochäten +. Mütterliche Milch Antistoff +.

Derartige Vorkommnisse sind nun keineswegs etwas Besonderes, sondern im Gegenteil etwas recht Ordinäres, so daß nicht recht verständlich erscheint, warum R. solche Fälle ganz in den Hintergrund treten läßt.

Ob alle Kinder in der Latenzzeit (die R. für Inkubationszeit ansieht) negativ reagieren, erscheint mehr als zweifelhaft. Auch würde eine negative Reaktion schwerlich irgend etwas erweisen. Ich erinnere übrigens an den Fall von Karewski (Berlin. klin. Wochenschr. 1908. No. 11. p. 566): Die Mutter eines blühenden, absolut gesund

Syphilidologen vereinigen läßt, daß der mütterlichen Lues jedenfalls eine weitgrößere Wertigkeit für die Uebertragung auf das Kind zukomme als der väterlichen. Auch Fingers Einwand erscheint mir nicht ganz stichhaltig: Bei antekonzeptioneller Lues kann die Erkrankung eben schon vor Bildung der Placenta (decidual) oder doch in den ersten Stadien der Placentarbildung aufs Ei übergreifen, während die postkonzeptionelle Infektion die placentare für Spirochätenwucherung wenig geeignete Scheidewand schon mehr oder weniger fertig vorfindet. Mohn beschreibt selber einen Fall von postkonzeptioneller Infektion der Mutter bei gesundem Vater durch einen anderen syphilitischen Mann. Das Kind blieb gesund und nur einzelne Spirochäten drangen von der Mutter her in die Placentazotten ein. Wechselmann (Dtsch. med. Wochenschr. 1909. No. 15) neigt dagegen mehr Matzenauers Ansicht zu, daß die Lues nur von der kranken Mutter intrauterin übertragen wird. Wenn Wechselmann hierbei das schon von Matzenauer vorgebrachte Argument wiederholt, der paterne Uebertragungsmodus bei der Syphilis würde „eine in der gesamten diesbezüglichen Pathologie einzig dastehende Ausnahmestellung“ einnehmen, so müssen wir dem doch entgegnen, daß auch **das** noch nicht so ganz sicher ist. Es sei gestattet, darauf einzugehen.

Der placentare Uebergang von Krankheitserregern ist hinreichend sichergestellt bei Milzbrand, Pneumonie, Typhus, pyogenen Kokken, Recurrens, Variola, Tuberkulose, bei der japanischen Infektionskrankheit „Kakke“ (J. Ogata), bei dem durch den Bangschen Bacillus hervorgerufenen seuchenhaften Verkalben der Rinder (ob auch die nach mehrmaligem Verkalben vorhandene Immunität der Kühe auf die Frucht übertragen wird, ist meines Wissens noch nicht untersucht) und bei dem durch Streptokokken bedingten seuchenhaften Verfohlen der Stuten. Bei diesem seuchenhaften Verfohlen konnte im Experiment die postkonzeptionelle Luesinfektion gewissermaßen imitiert werden:

---

scheinenden Kindes laboriert $2^{1}/_{2}$ Jahr an einer Mastitis, die ein gummöses Aussehen darbietet. Die Wassermannsche Reaktion fällt sowohl bei ihr wie bei dem gesund erscheinenden Vater als auch bei dem Kinde positiv aus. Heilung der Mastitis durch Jod. Also positive Reaktion beim Kinde trotz der Latenz der Lues.

Ebensowenig kann ich R. zustimmen, wenn er sagt, die Mütter luetischer Kinder reagierten so gut wie immer p. p. positiv. Schon Knöpffelmacher und Lehndorff (Dtsch. med. Wochenschr. 1908. No. 27) sahen bei 14 Müttern, die nach dem Collesschen Typ geboren hatten, 9mal komplette, 2mal partielle Hemmung, aber 3mal komplette Hämolyse! Ich selbst habe in meiner Arbeit im Centralbl. für Gynäkologie (1909. No. 15) ebenfalls den Fall einer „Collesmutter“ mit negativer Reaktion ihres Blutserums unmittelbar p. p. veröffentlichen können. (Frau Joh.)

Der zwingende Beweis, daß jede Mutter eines luetischen Kindes syphilitisch sei, und daß der spermatische Uebertragungsmodus nicht existiert, ist auch Rietschel nicht gelungen. Noch sind das offene Fragen. Wie schwierig deren Beantwortung ist, möge ein Fall erweisen, den ich der freundlichen Mitteilung des Herrn San.-Rat E. Pick verdanke, und der fast den Charakter einer experimentellen Versuchsanordnung trägt: 28-jähr. Patient floride Sekundärlues im Sommer 1886. Schmierkur (180 g ungt. cin.). Frühjahr und Herbst 1887 Kur wiederholt. Seitdem niemals mehr Symptome. Heiratet 1892 gesunde Frau, die niemals Krankheitssymptome aufweist. In 2 Jahren 3 Aborte. Energische Schmierkur Beider. Darauf 4. Konzeption, wiederum Abort im 3. Monat. Mazerierte Frucht. In der nun folgenden 5. Gravidität macht nur die Mutter eine gründliche Schmierkur durch. Trotzdem Abort. Erneute sehr ausgiebige Schmierkur lediglich des Mannes, und nun erst werden nacheinander drei ausgetragene Kinder geboren, von denen das älteste allerdings mit 12 Jahren cerebrale spätluetische Symptome zeigt, während die beiden anderen völlig gesund scheinen. Wir haben hier also die interessante Tatsache, daß die materne extra und intra graviditatem vorgenommene Behandlung anscheinend kein Resultat zeitigte, während eine rein paterne Therapie zum Ziele führte. Es spräche dies für eine spermatische Uebertragung. Und doch könnten Gegner dieser Möglichkeit einwenden, es handle sich nur um ein langsames Erlöschen einer latenten maternen Lues.

Intravenös einer Stute injiziert, bewirkten die sonst durch den Coitus übertragbaren Streptokokken nach 20 Tagen Abort. Sie fanden sich im Uterus der Stute und im Herzblut des totgeborenen Fohlens.

Inwieweit das von Centanni nachgewiesene Uebergehen des Hühnerpestvirus in die Eier und das von Marchiafava, Celli, Reynal und Barthélemy konstatierte Eindringen des Bacillus avisepticus in die Eier bei Hühnercholera dem ovulären, inwieweit dem placentaren Modus entspricht, ist nicht ganz leicht zu entscheiden. Wie Westermayer richtig in einer Kritik der Versuche von Maffucci und Baumgarten (Injektion von Tuberkelbacillen in Hühnereier, Erzielung tuberkulöser Küken) bemerkt, käme beim meroblastischen Ei nur eine Infektion der Keimscheibe selbst als Analogie zum ovulären Uebertragungsmodus beim Menschen in Betracht. Findet bei Hühnerpest und Hühnercholera, was sehr wohl denkbar, eine Eiinfektion schon vor der Eibefruchtung statt, so würde es sich um eine echte germinale Infektion handeln, und ebenso, wenn erst nach der Befruchtung die Erreger zugleich in Dottermasse und Keimscheibe eindringen. Reynal und Barthélemy untersuchten 14 Eier von an Hühnercholera erkrankten Hühnern. Dieselben kamen durch Bebrütung nicht zur Reife, und enthielten nur bakteriendurchsetzte Blutklumpen. Es spricht dies sehr dafür, daß auch der animale, nicht nur der vegetative Teil des Eies infiziert wurde. Aber die Gegner des germinativen Uebertragungsmodus von Krankheiten könnten gerade darauf hinweisen, daß eben diese von vornherein infizierten Eier gar nicht entwickelungsfähig waren. Durch postkonzeptionelle experimentelle Infektion von Meerschweinchen zeigten Marchiafava und Celli übrigens, daß die aviziden Bakterien „durch die Eihäute auf den Foetus“ (also wohl auf dem Placentarwege) übergehen können. Sicherer scheint mir die ovuläre, also rein germinative Uebertragungsform in den beiden folgenden Beispielen zu sein: Erstens kommen nach Hatschek bei Spongien Algen symbiotisch im Tierkörper vor, die in die Eizellen eindringen und auch im sich entwickelnden Embryo vorhanden sein können. Die Eier der Spongien sind große Zellen mit umfangreichen Kernbläschen, entstehen aus Mesodermzellen, und machen am Ort ihrer Entstehung Befruchtung, Furchung und Entwickelung zur Flimmerlarve durch.

Dann ist zweitens das Texasfieber, die Hämoglobinurie der Rinder, ein sehr wichtiges Beispiel. Nach den Untersuchungen von Th. Smith und Kilborne, die von Robert Koch, Kossel, Schütz, Miessner und Weber bestätigt wurden, gehen die Pyrosomen des Texasfiebers auf die Ovula der Zecken (Rhipicephalen und Ixodes reduvius) und durch sie auf deren Deszendenz über.

Die aus den Eiern hervorgegangenen 6-beinigen Larven bohren sich nach Kossel in die Haut des Rindes und leben von dessen Blut. Nach etwa 8 Tagen häuten sie sich und werden zu 8-beinigen Nymphen. Diese häuten sich nach weiteren 8 Tagen und werden zu geschlechtsreifen Individuen. Die viel kleineren Männchen der Zecken sitzen am Weibchen fest und nehmen keine Nahrung auf (Hertwig). Nach der Befruchtung und nachdem die Weibchen durch Blutaufnahme Haselnußkerngröße erlangt haben, fallen sie ab und legen im Grase 2000—4000 Eier, um nach dem Eierlegen zu sterben. Nach 3—4 Wochen entschlüpfen den Eiern Larven, die im Grase leben, bis sie sich an ein Tier anheften. Haben die mütterlichen Zecken Pyrosomen mit dem Blut eingesogen, so sind die Larven ihrer Eier (welche augenscheinlich schon vor der Befruchtung infiziert werden) infektiös, so daß die Rinder, an denen diese neue Generation saugt, in etwa 2 Wochen typisch erkranken.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Hier liegt wohl ein der Kritik standhaltendes Paradigma einer ovulären germinativen Infektionsübertragung vor. Doch auch der spermatisch-germinative Infektionsmodus darf kaum generell abgelehnt werden.

Die Pébrine allerdings, die dafür ins Feld geführt wurde, müssen wir wohl fallen lassen, auch trotzdem Balbiani von Pébrinekörperchen durchsetzte Spermabündel abbilden konnte. Matzenauer zitiert mit Recht Pfeiffers Darlegung: „Pébrine der männlichen Schmetterlinge schließt in der Praxis der französischen Seidenzüchter die Benutzung der von gesunden Weibchen geborenen Eier nicht aus."

Die spermatische Uebertragung der Tuberkulose wollen wir als höchst unsicher beiseite lassen. Zwar konnte Friedmann nach Injektion von Tuberkelbacillen in die Vagina eben befruchteter Meerschweinchen in den 6-tägigen Embryonen Bacillen nachweisen (was auch als decidualer Modus gedeutet werden kann); zwar kommen Tuberkelbacillen auch ohne Hodentuberkulose im Sperma vor, und endlich halten zwar Baumgarten, Jousset, Riffel und Haupt an der germinalen Tuberkuloseübertragung noch fest; aber die wenigen sichergestellten Fälle kongenitaler Tuberkulose sind sämtlich in Verbindung mit schwerster mütterlicher Tuberkulose vorgekommen. Intratestikuläre Infektion im Tierexperiment führt nicht zur Tuberkulose der Jungen (Gärtner, Cornet, Hauser).

Bei weitem wahrscheinlicher, wenn auch noch nicht in befriedigender Weise völlig gesichert, ist die paterne spermatische Vererbung der Lepra. Die Hoden sind bei der tuberösen Form fast immer affiziert. Die Bacillen durchsetzen die Samenkanälchen, das Bindegewebe, die Blutgefäßendothelien der Testikel, so daß es in späteren Stadien zur Sterilität kommen kann. Babes fand im Samen die Leprabacillen neben lebenden Spermatozoen. Arning konstatierte ihr Vorhandensein auch im Ovarium und Babes direkt in den Eizellen, deren Entwickelung durch die Gegenwart der Bacillen nicht gehemmt wurde. Die indische Leprakommission stellte nun fest, daß 6 Proz. der Kinder Lepröser leprös sind. Für die spermatische Uebertragung dabei sprechen Zambacos Fälle, von denen der erste mir besonders beweiskräftig scheint.

Fall 1. Ein Lepröser zeugt mit einer **nicht Leprösen** mehrere Kinder. Nach 3 nicht leprösen Kindern folgen 2 Aborte, dann ein Kind, das bei der Geburt lepröse Effloreszenzen zeigt und rasch an Lepra zugrunde geht.

Fall 2. Das vierte Kind eines seit 10 Jahren leprösen Mannes zeigt schon 15 Tage post partum Leprasymptome.

Wir sind auf diese Dinge genauer eingegangen, weil es sich um einen prinzipiell hochwichtigen Punkt handelt und es doch einmal betont werden muß, daß die Bakteriologie noch keineswegs in der Lage ist, den Gedanken eines germinativen, sei es ovulären, sei es spermatischen Uebertragungsmodus a limine abzulehnen. In der Tat möchte ich auch für die Lues wenigstens nach dem heutigen Stand der Dinge noch an dem germinativen Modus festhalten, wenn ich auch den placentaren für den weitaus häufigeren halte. Das Sperma scheint relativ selten infektiös zu sein, die Ovarienlues eine überaus rare Erkrankung darzustellen. Bewiesen ist allerdings das Vorkommen der germinativen Luesübertragung bis heute noch nicht, nur wahrscheinlich gemacht. Auf Gründe und Gegengründe können wir an dieser Stelle nicht weiter eingehen, nur ein Argument für den paternen Modus sei hier berücksichtigt, weil es sich auf die postkonzeptionelle Infektion der Frau stützt.

Neumann sagt, eine von einem syphilitischen Mann geschwängerte, anscheinend gesund gebliebene Frau kann in jedem Monat der Schwangerschaft durch einen anderen syphilitischen Mann mit Primäraffekt affiziert werden. Eine solche Schwangere könne also, trotzdem sie ein syphilitisches Kind trug, nicht latent syphilitisch gewesen sein. Daß sie dann durch das Kind auch nicht luesimmun geworden sein könne, fügt Neumann nicht hinzu. Aber auch abgesehen davon, darf diese seine Argumentation wohl kaum den Anspruch auf Stichhaltigkeit erheben. Wer will, wer könnte beweisen, daß die erst nach der Geburt festgestellte Syphilis tatsächlich vom ersten Mann, vom Vater stammt und nicht erst vom zweiten? Einen derartigen Beweis zu führen, dürfte nur bei zwei besonderen Konstellationen möglich sein. Entweder: Der für die Mutter infektiöse Beischlaf mit dem zweiten Mann findet erst in den letzten 6 Wochen der Gravidität statt, also in einer Zeit, in der die Spirochäten nicht mehr auf den Fötus übergehen können. Trotzdem wird ein syphilitisches Kind geboren. Oder: Der für die Mutter infektiöse Beischlaf mit dem zweiten Mann findet statt, nachdem ein Absterben des Kindes in utero konstatiert wurde und bevor die Totgeburt erfolgt ist. Die Untersuchung der mazerierten Frucht muß dann noch bakteriologisch oder biologisch den Nachweis der Lues als Todesursache erbringen. Soweit ich die Literatur übersehe, sind derartige Fälle aber noch nicht beobachtet worden, bei denen die Lues des Kindes erwiesenermaßen vom Vater stammt, während die weit später akquirierte Lues der Mutter ein völliges Unbeteiligtsein an der intrauterinen Fruchtlues manifestiert.

Daß die auf eine spätpostkonzeptionelle mütterliche Infektion mit Freibleiben des Kindes folgenden Schwangerschaften gewöhnlich schwer syphilitische Kinder hervorbringen, kann sowohl durch die rezente Lues des Vaters (luetisches Sperma) als auch durch die rezente Lues der Mutter (luetisches Ovulum), als auch durch die Lues der Decidua und der sich bildenden Placenta erklärt werden. Ebenso vieldeutig bleibt noch der Infektionsmodus, wenn bei postkonzeptioneller Infektion und Zwillingen nur der eine erkrankt. Auch die von Rosinski und Bertino gemachte Feststellung, daß dies nur bei zweieiigen Zwillingen vorkommt, klärt uns die Sachlage keineswegs. Bildet doch die Zwillingsschwangerschaft gewissermaßen eine Ausnahme von der Regel, daß bei postkonzeptioneller Infektion nur der placentare Uebertragungsmodus in Frage kommt, wenigstens solange wir den (allerdings noch nicht sicher erwiesenen) Vorgang der Superfökundation als möglich und denkbar anerkennen. Fellner (Ueber die Tätigkeit des Ovariums in der Schwangerschaft. Arch. f. Gyn. Bd. 87. Heft 2) tritt mit großer Entschiedenheit für das Vorkommen nicht nur einer Superfoecundatio, sondern selbst der Superfoetatio ein und sucht stichhaltige Belege dafür zu bringen.

Bei Superfoecundatio durch einen zweiten und zwar luetischen Mann würde die Infektion nur für das vom ersten Mann befruchtete Ovulum sicher postkonzeptionell sein, für das zweite Ovulum aber eventuell konzeptionell. Im Bereich der Möglichkeit liegen demgemäß folgende Infektionsarten:

1) Beide Ovula sowohl das vom Gesunden als auch das vom Luetiker befruchtete werden placentar infiziert.

2) Durch Zufälligkeiten in der Spirochätenverteilung wird nur ein Ovulum placentar infiziert.

3) Das erste Ovulum bleibt gesund, das zweite Ovulum wird spermatisch ex patre infiziert.

4) Das zweite Ovulum wird spermatisch infiziert, während das erste erst nachträglich auf dem Placentarwege infiziert wird.

5) Erfolgt der infektiöse zweite Beischlaf sehr bald nach dem ersten, so könnte durch das luetische Sperma nicht nur das zweite Ei infiziert werden, sondern auch das erste vom ersten Mann bereits befruchtete Ovulum während seiner Tubenwanderung zum Uterus oder während seiner Einbettung in die Decidua.

Lehnt man die Superfoecundatio überhaupt ab, oder liegt sie im speziellen Fall nicht vor, so bleiben noch folgende Möglichkeiten:

6) Beide Eier sind vom ersten gesunden Mann befruchtet und werden infolge der Lues des zweiten beide placentar infiziert.

7) Beide Eier sind vom ersten gesunden Mann befruchtet und werden von dem luetischen Sperma des zweiten, sehr bald danach erfolgenden infektiösen Coitus auf ihrem tubaren Wege zum Uterus oder während ihrer Einbettung in die Decidua nachträglich infiziert.

8) Beide Eier sind vom ersten gesunden Mann befruchtet. Nur ein Ovulum wird durch Zufälligkeit in der Spirochätenverteilung placentar infiziert.

9) Beide Eier sind vom ersten gesunden Mann befruchtet. Das eine wird von dem luetischen Sperma des zweiten, sehr bald danach erfolgenden infektiösen Coitus auf seinem tubaren Wege zum Uterus oder während seiner Einbettung in die Decidua nachträglich infiziert.

Liegen endlich beide Begattungsakte zeitlich sehr dicht zusammen (haben sie z. B. am gleichen Tage stattgefunden), so kann man auch nur selten entscheiden, ob nicht beide Eier vom Luetiker befruchtet worden sind. Alsdann könnten 10) beide Ovula placentar, 11) beide Ovula spermatisch, 12) nur ein Ovulum placentar, 13) nur ein Ovulum spermatisch infiziert werden.

So liegen auch hier wieder die Dinge recht kompliziert. Hatte z. B. im Fall Pinard eine Frau an einem Tage sowohl mit einem gesunden wie mit einem luetischen Liebhaber Verkehr und bekam dieselbe später Zwillinge, von denen nur einer syphilitisch war, so ist die Entscheidung gewiß unmöglich, welche der erwähnten Uebertragungsarten hier vorlag.

Eindeutiger erscheint der Fall Martin [Konzeption Mitte September, Ende Januar luetische Erscheinungen der Mutter, Schmierkur im März. Mitte Juni Partus: Zwillinge, ein Kind sanguinolent (Antigen schwach +); ein Kind lebend, gesund (Antistoff —). Mutter Antistoff stark +. Verkehr mit dem angeblich gesunden Vater der Kinder seit der Konzeption verneint]. Martins Erklärungsversuch seines Falles, beide Kinder seien postkonzeptionell infiziert, jedoch zu verschiedenen Zeiten, so daß die Hg-Kur der Mutter den einen Zwilling noch habe retten und heilen können, vermag ich aus mehreren Gründen nicht zu akzeptieren. Zunächst ist es sehr unwahrscheinlich, wenn die Lues bereits einen Zwilling töten konnte, daß dann eine mütterliche Quecksilberkur noch imstande gewesen sein soll, den zweiten völlig gesund zu machen. Ferner nimmt Martin eine zeitliche Differenz des Luesüberganges auf die Kinder zu Hilfe, die unerklärlicher ist, als wenn man von vornherein den placentaren Uebergang nur für das eine Kind zugibt und die andere Placenta für undurchlässig oder gar nicht betroffen erklärt. Jedenfalls verschiebt er damit nur das Problem, ohne es zu lösen. Diese Divergenz im Verhalten der Placenta ist überhaupt schwer verständlich, wenn man bedenkt, wie sicher sonst eine recente Lues der Mutter auf das Kind übergeht. Da jedoch die Mutter im Martinschen Fall anscheinend schon fast 4 Monate schwanger gewesen ist, ehe sie infiziert wurde, so ist nicht nur die Superfoecundatio auszuschließen (resp. Superfoetatio), weil keine entsprechenden Entwickelungsdifferenzen der Früchte zu konstatieren waren, sondern auch jede Art spermatischer Uebertragung. Wir können also auch Gräfenberg nicht zustimmen, wenn er den Martinschen Fall so erklären will, daß in das eine Ei „Spirochäten des Genitalsekrets der Eltern vor seiner Nidation eingedrungen" seien, denn dies harmoniert nicht mit den Daten der Konzeption und mütterlichen Infektion. Endlich können gegen die Martinsche Erklärung auch alle Fälle von Erkrankung nur eines Zwillings bei antekonzeptioneller Lues und Schmierkur der Mutter ins Feld geführt werden. Z. B. Fall Prunec: Lues des Mannes. 2 Aborte der Frau. Nach erneuter Empfängnis spezifische Kur der Frau. Im 8. Monat wird ein mazeriertes und im 9. Monat ein sicher gesundes Kind geboren. Hier hätte doch nach Martin die Erkrankung beide Kinder gleichzeitig treffen, die Therapie beide gleich stark beeinflussen müssen. Trotzdem die gleiche Differenz wie in seinem Fall postkonzeptioneller Infektion. So bleibt meines Erachtens nur die Erklärung übrig, daß von den 13 oben genannten Möglichkeiten die 8. zutrifft, d. h. daß von beiden vom gesunden Vater befruchteten Eiern nur das eine Ovulum placentar und postkonzeptionell infiziert wurde.

Gräfenberg vervollständigt die Reihe der Möglichkeiten luetischer Infektion bei Zwillingen noch, indem er darauf hinweist, daß auch eine „Infektion en passage“ oder eine post partum-Infektion eines Zwillings bei postkonzeptioneller Lues der Mutter vorkommen könne.

Wir haben soeben die schützende Rolle der Placenta und auch ihre Insuffizienz als Scheidewand streifen müssen. Es ist dies überhaupt einer der interessantesten Punkte der postkonzeptionellen Luesinfektion. Die Statistik scheint für eine Schutzkraft der Placenta zu sprechen. Neumann zählte unter 23 Fällen postkonzeptioneller Luesinfektion 6 gesunde Kinder, Mayer unter 20 Fällen 15. v. Winkel berechnet den Kinderverlust bei mütterlicher Infektion, die ein oder mehrere Jahre vor der Konzeption erfolgte, auf 79 Proz., den bei postkonzeptioneller Infektion dagegen auf 71 Proz. Finger hatte in 50 Fällen postkonzeptioneller Infektion eine für rezente mütterliche Lues gewiß relativ geringe Gesamtmortalität der Kinder (ante und post partum) von 46 Proz. Auch meine eigenen Erfahrungen konnte ich in früheren Publikationen dahin zusammenfassen, daß die postkonzeptionelle Lues nicht ganz so schwere Folgen hat, wie sonst die mütterliche Lues. Matzenauer weist darauf hin, daß kein Fall bekannt geworden sei, daß eine in der zweiten Hälfte der Schwangerschaft infizierte Frau eine Totgeburt bekommen hätte. Das ist nun nicht ganz richtig, zitiert er doch selber Neumanns Fall: Syphilitischer Mann infiziert schwangere Frau, die im 8. Monat einen Primäraffekt bekommt. Am normalen Graviditätsende Totgeburt. Immerhin ist das eher eine seltene Ausnahme, die die Regel bestätigt. Möglich auch, daß die betreffende Frucht bereits ex patre luetisch war, was allerdings gerade Matzenauer ablehnt. Diese letztere Möglichkeit ist nun aber gänzlich ausgeschlossen in einer weiteren Ausnahme, die ich selber geben kann:

Im Fall Mlch. (No. 2 der Tabelle) stammte das Kind von einem gesunden Vater, die Mutter wurde im siebenten Monat von einem anderen Manne infiziert und gebar 8—10 Tage zu früh zirka 13 Wochen nach der Infektion ein totes Kind, welches bakteriologisch und biologisch als sicher luetisch erkannt wurde. Rechnen wir 6 Wochen als Zeit für die Spirochäten, ins Placentarblut zu gelangen, so hätte demnach eine 7-wöchentliche Lues genügt, das 8-Monatskind zu töten!

Lesser hat sich nun dahin ausgesprochen, daß die günstigeren Resultate für das Kind bei postkonzeptioneller Infektion eine Heranziehung der Placenta als Schutzorgan nicht nötig machen, daß es vielmehr nur auf die Zeit der Infektion ankomme: Je früher, um so verderblicher müsse der Einfluß des Virus auf den sich bildenden Organismus sein. Das letztere ist gewiß richtig, und die wachsende Widerstandskraft des sich entwickelnden fötalen Organismus wird einen nicht zu unterschätzenden Faktor bilden. Es erhellt schon aus dem Gegensatz des Spirochätenreichtums der Frucht im Vergleich zur Spirochätenarmut des Erwachsenen und ferner daraus, daß, trotzdem Rosinski Leberveränderungen schon an einer 6 Wochen alten Frucht konstatierte, in den ersten 5 Monaten die histologischen Veränderungen, also die Gewebsreaktion der fötalen Organe gegen das Virus äußerst minimale sind. Eine weit geringere Widerstandskraft des Fötus gegen Infektionen als beim Erwachsenen anzunehmen und damit auf ein langsames Entstehen und Anwachsen dieser Widerstandskraft im Embryonalleben liegt durchaus in der Richtungslinie der modernen Immunitätslehre. Nach Halban und Landsteiner wirkt bei Infektionskrankheiten aller Art das mütterliche Serum stärker agglutinierend, bakterizid, antifermentativ, antitoxisch als das Serum des Neugeborenen. Und doch dürfte meines Erachtens dieser an sich wichtige Faktor der wachsenden Abwehrfähigkeit des Fötus gegen das Virus unsere Beobachtungen bei der postkonzeptionellen Syphilis kaum restlos erklären. Man bedenke, wie sicher sonst eine rezente Syphilis der Mutter auf die Frucht übergeht, wie hoch empfänglich andererseits das gesunde Neugeborene gegen die Spirochäteninfektion ist. Wenn das Neugeborene sich auch sicher in viel höherem Maße gegen die infektiöse Invasion zur Wehr setzt als ein ganz junger Embryo, so erkrankt er doch und akquiriert eine vollkräftige konstitutionelle Syphilis! Das Kind einer erst spät in der Schwangerschaft luetisch gewordenen Frau, in seltenen Fällen auch bei früher postkonzeptioneller mütterlicher Infektion, kann aber völlig gesund bleiben (vgl. No. 5, 8, 10, 13 der Tabelle), und dies scheinen auch die neueren feineren Untersuchungsmethoden, die biologischen und sonstigen, oben aufgezählten, zu bestätigen.

Gewiß ist die Blutinfektion einer placentaren Luesübertragung nicht ohne weiteres einer Haut-Schleimhautinfektion post partum gleichzusetzen (wie schon aus Tierversuchen erhellt), daß aber auch sie zur konstitutionellen Erkrankung führen kann, erweisen ja gerade alle Fälle von Fruchtinfektion und tardiver Kinderlues bei Infektion der Mutter in der Schwangerschaft, selbst in späteren Monaten der Gravidität. Bleiben also Kinder ganz gesund oder ist der Krankheitsverlauf ein auffallend verzögerter, so müssen wir doch wohl neben dem Widerstand der Frucht noch einen weiteren Schutzfaktor supponieren, und ich glaube kaum, daß dieser sich anderswo ausfindig machen läßt als in der Placenta. Das Kind kann nur gesund bleiben, weil die Placenta zwischen der luetisch gewordenen Mutter und dem Fötalkörper zwischengeschaltet ist. Auch dieser placentare Widerstand gegen die Infektion muß mit der placentaren Ausbildung und Entwickelung im Laufe der Schwangerschaft wachsen, genau wie der Fruchtwiderstand. Und sicherlich würde der Erfolg des placentaren Schutzes, der Kontrast gegen den gewöhnlichen Verlauf bei antekonzeptioneller Syphilis noch viel augenfälliger sein, wenn nicht gerade im Anfange einer Schwangerschaft der Coitus viel häufiger vollzogen würde als im weiteren Verlauf und gegen Ende desselben. Eine postkonzeptionelle Infektion wird dementsprechend im Anfang der Schwangerschaft auch weit häufiger sein als späterhin, also zu einer Zeit, wo nicht nur der Fruchtwiderstand, sondern auch der Placentarschutz relativ gering ist.

Auf welche Eigenschaften dürfen wir nun aber die Schutzkraft des Mutterkuchens zurückführen? Es ist schwer, heute darauf präzis zu antworten, besonders weil wir noch keine Kenntnis von dem Immunitätsmechanismus bei der Syphilis haben und es noch sehr fraglich ist, inwieweit die Vorgänge, die sich uns in der Wassermannschen Reaktion

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

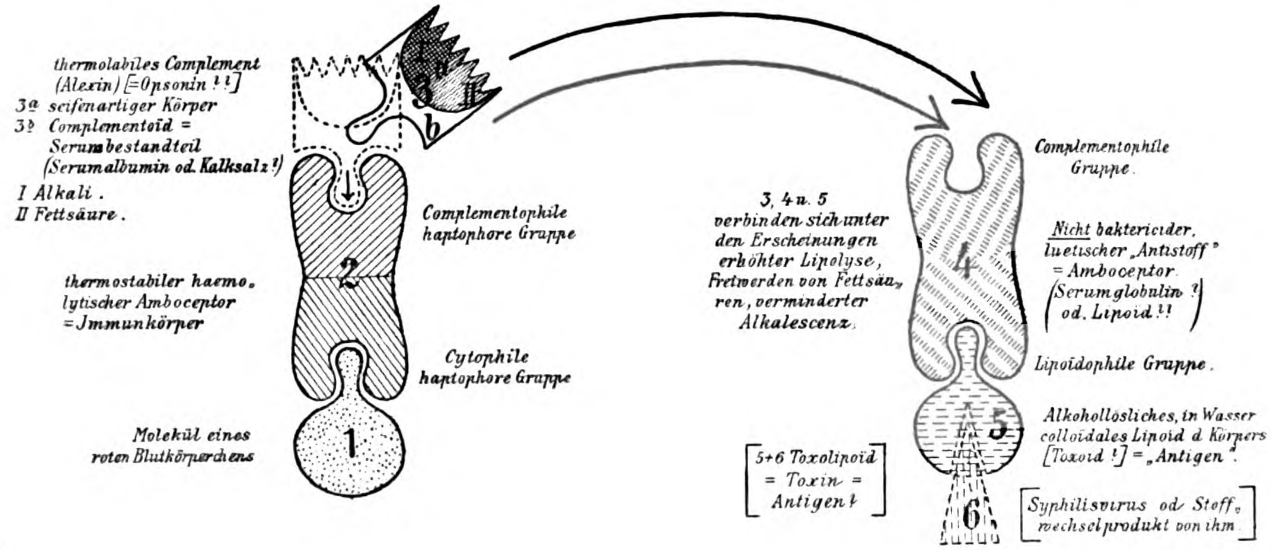
enthüllen, mit ihm in Zusammenhang stehen. Wagen wir trotzdem den Versuch, eine theoretische Vorstellung vom Zustandekommen des Placentarschutzes zu gewinnen, so müssen wir wohl in erster Linie auf das Placentarblut rekurrieren. Die Spirochäte kann sich, wenn sie überhaupt im Blute nur kümmerlich existieren kann, in einem so enorm blutreichen Organ, wie es die Placenta ist, nicht schrankenlos ausbreiten. Gewiß kommen Spirochäten im Blute vor — und ich selber habe schon in meiner ersten sich mit diesen Fragen beschäftigenden Arbeit (Spirochätenbefunde im menschlichen Auge. Deutsche medizin. Wochenschr. 1906. No. 48) eine Spirochäte im Gefäßlumen frei im Blute schwimmend abgebildet, doch habe ich aus meinen zahlreichen Spirochätenpräparaten wie aus der dem Pathologen seit je bekannten Alteration der Gefäßwandungen durch das syphilitische Virus den bestimmten Eindruck bekommen, daß die Spirochäte zwar mechanisch vom Blute fortgerissen und verschleppt wird, daß sie aber möglichst bald in die Gefäßwandungen und ins Bindegewebe der Umgebung einzudringen bestrebt ist, wo ihre eigentliche Vermehrung und aktive Ausbreitung erfolgt. Deswegen ist Blut auch schwer verimpfbar, deswegen sind die Spirochätenbefunde im Blut so spärlich. Und wie viele andere Forscher, habe auch ich bei frischen Exanthemeruptionen Syphilitischer im Blut vergebens anf Spirochäten gefahndet. Mit dieser Argumentation steht die von mir zuerst betonte Spärlichkeit der Spirochäten in der blutreichen Placenta gut in Einklang. (Gräfenberg sagt: „Der Mangel ist so evident, daß höchstens 40 Proz. der untersuchten luetischen Früchte spärliche Exemplare in der Placenta besitzen. Immerhin gehören Spirochätenbefunde in der Placenta zu den Seltenheiten. Deshalb blieb auch bei der Durchmusterung von Placentarausstrichen mit Hilfe des Dunkelfeldapparates der Erfolg immer aus“.) Ist der Blutreichtum an sich schon ein Hindernis für den Lueserreger, so dürften etwaige besonders im mütterlichen Blut gebildeten, für uns heute noch nicht nachweisbarer Schutz- und Immunstoffe ein weiteres Hemmnis für ihn bilden. In der fötalen Placenta werden diese Stoffe nur spärlich vorhanden sein, sei es daß sie aktiv vom fötalen Organismus in geringem Maße gebildet sind, sei es daß sie passiv immunisierend die Scheidewand von der Mutter her passiert haben. So erkläre ich mir auch — wie ich glaube zwanglos — die auffallende Tatsache, daß Spirochäten mit der vereinzelten Ausnahme eines isolierten Befundes von Hübschmann lediglich in der Placenta foetalis, nicht in der materna, gefunden wurden. So auch den sehr beachtenswerten Befund Steffecks, der in 2 Fällen postkonzeptioneller Lues der Mutter und des Fötus, also bei sicher placentarem Uebertragungsmodus, fast ausschließlich die Placenta foetalis erkrankt sah. Ich kann mich also nicht der Ansicht Gräfenbergs anschließen, der als Antipode Matzenauers aus dem Vorhandensein der Spirochäten im fötalen Teil der Placenta im Vergleich zum Spirochätenreichtum des Fötus folgende Schlüsse zieht: „Immer ist die fötale Komponente des wachsenden Eies die primäre Lokalisation der Syphiliserreger . . . Die Spirochäten sind mit Beginn der Fruchtentwickelung in das Ei eingedrungen und sind in ihm lokalisiert geblieben. Die bekannte Affinität der embryonalen Zellen zu den Spirochäten hat diese in der Eianlage verankert . . . Neben dem germinativen Infektionsmodus tritt die Infektion des Kindes durch Vermittelung der mütterlichen Placenta, die angeblich materne oder placentare Infektion völlig in den Hintergrund." Ich glaube vielmehr, daß der durch die Infektion in der Schwangerschaft sichergestellte placentare Modus häufiger als der germinative ist. Zwar kann die Spirochäte in vereinzelten Exemplaren die Placenta „durchwachsen" und so die Fruchtinfektion vermitteln, findet in der Placenta aber und besonders im mütterlichen Anteil derselben aus den oben dargelegten Gründen keinen geeigneten Boden. Findet sie aber schon geringere Widerstände im fötalen Teil der Placenta, so kann sie sich in einem jungen Embryo schrankenlos vermehren und ausbreiten, in einem älteren Fötus in noch genug verhängnisvoller Weise ansiedeln, nicht weil eine „bekannte Affinität der embryonalen Zellen zu den Spirochäten" besteht (wie etwa zwischen Gonokokken und Urethra, Conjunctiva, Cervix, Gelenken und Endocard), und die Spirochäten „verankert", sondern weil der fötale Organismus über keine oder doch nur über geringe Abwehrkräfte verfügt. Für den placentaren Modus spricht auch die so überaus häufige Ansiedlung der Spirochäten gerade in der Leber, die nur relativ selten bei Lues der Frucht spirochätenfrei befunden wird. Aus der Art der Spirochätenverteilung in der Placenta kann man dagegen meines Erachtens keine zwingenden Schlüsse auf den Uebertragungsmodus ziehen.

Aus all diesen Erwägungen scheint die Bedeutung der Placenta als Schutzorgan doch hervorzugehen, und nur eine völlig stichhaltige Widerlegung durch neue eindeutige Tatsachen dürfte uns von dieser Annahme abbringen. So ist also infolge des placentaren Schutzes die Infektion in der Schwangerschaft für das Kind ein relativ günstiger Infektionsmodus. Daß dagegen die Schwangerschaftshyperämie und Fluxion die sekundären Luessymptome lokal an den Genitalien der Frau stärker hervortreten läßt, für die Frau also ein — wenn auch für den ferneren Krankheitsverlauf nicht bedeutungsvolles — zunächst jedoch verschlimmerndes Moment darstellt, daran muß ich trotz des Einspruchs Wechselmanns festhalten. Eine exzessive Gestaltung des Primäraffektes habe ich nicht beobachtet und weder angenommen noch behauptet. Daß die Schwangerschaft zu mächtigen Wucherungen ad genitalia in der Sekundärperiode führen kann, gibt Wechselmann ja selber zu. Nichts anderes sage ich. Aber das halte ich auch für unbestreitbar. Sowohl eine rezente antekonzeptionelle Lues als auch besonders die postkonzeptionelle bringt in der Genitalregion während der Schwangerschaft oftmals, wie ich selber beobachten konnte, eine ungewöhnlich starke Entwickelung von nässenden Papeln, Papulae luxuriantes, Condylomata lata hervor. Es ist das gleiche, was wir auch z. B. bei den mächtigen Schwangerschaftswucherungen der Condylomata acuminata sehen können.

Ob die Placenta keinerlei von den Stoffen des Serums, an welche die Wassermannsche Reaktion gebunden ist, übertreten läßt, wie Wechselmann vermutet, ist noch zweifelhaft. Darin jedoch stimme ich mit ihm überein, daß der Ausfall der biologischen Reaktion eine Diskrepanz zwischen dem Verhalten von Mutter und Kind zeigen kann. Ich verweise auf Fall Mlch. No. 2 der Tabelle, bei welchem ebenso die mütterliche Milch negatives, die kindliche Pleuraflüssigkeit positives Resultat gab, und auf Fall Dob. No. 11 der Tabelle, bei welchem ebenso die mütterliche Milch negativ und das kindliche Blutserum positiv reagierte.

Die biologische Untersuchung des Milchserums (erhalten durch zehnfache Verdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung und Zentrifugieren) führt uns zum Thema der Ammenfrage, deren praktische Lösung durchaus von den Anschauungen abhängig ist, die wir uns von der Immunität und den biologischen Vorgängen bei Syphilis machen. In unserem speziellen Fall der postkonzeptionellen Infektion kann sie recht kompliziert sein. Und dies um so mehr, als wir heute die durch Komplementbindungen nachweisbaren Wassermannschen „Antigene und Antistoffe“ nicht mehr so ohne weiteres als typische Antigene und Antistoffe ansehen können, wie wir sie aus der Immunitätslehre sonst kennen, und wie es bei Entdeckung dieser Methode möglich schien. Daß diese „Antistoffe“ immunisierende Eigenschaften haben, wird von fast allen Forschern bestritten. Besonders sprechen auch die umfangreichen Affenexperimente der Neisserschen Expedition dagegen: Selbst bei höchstem Antikörpergehalt hatte das Affenserum keinerlei giftabtötende oder giftabschwächende Eigenschaft. Auch pflegen Antikörper echter Toxine und Fermente keine Ambozeptoren, sondern „Haptine erster Ordnung“ zu sein. Die Wassermannschen Antistoffe werden lediglich als diagnostisch wertvolle „Reagine“ angesehen, die höchstwahrscheinlich noch vorhandene Spirochätenherde anzeigen und deren dauerndes Verschwinden durch die spezifische Therapie unbedingt angestrebt werden muß (Citron). Von diesem Gesichtspunkt aus sagt W. Fischer folgerichtig, es fehle jede Basis, die Milch einer Luetischen als Medizin für das luetische Kind anzusehen. Und doch reimt sich gerade das nicht recht mit dem schematischen Vorstellungsbild zusammen, das wir uns von der Komplementbindungsreaktion in Ableitung von den Gedankengängen der Ehrlichschen Seitenkettentheorie und mit Berücksichtigung der vielen Ergebnisse der Luesserologie heute machen müssen.

Vergegenwärtigen wir uns einmal den Chemismus der Komplementfixation, wie er aus den Arbeiten von Altmann, Citron,


thermolabiles Complement (Alexin) [=Opsonin !!]
3a seifenartiger Körper
3b Complementoïd = Serumbestandteil (Serumalbumin od. Kalksalz ?)
I Alkali.
II Fettsäure.
1
2
3
a
b
I
II
Complementophile haptophore Gruppe
thermostabiler haemolytischer Amboceptor = Jmmunkörper
Cytophile haptophore Gruppe
Molekül eines roten Blutkörperchens
3, 4 u. 5 verbinden sich unter den Erscheinungen erhöhter Lipolyse, Freiwerden von Fettsäuren, verminderter Alkalescenz.
Complementophile Gruppe.
4
Nicht bakterieider, luetischer „Antistoff“ = Amboceptor. (Serumglobulin ? od. Lipoid !!)
Lipoïdophile Gruppe.
5
Alkohollösliches, in Wasser colloïdales Lipoid d. Körpers [Toxoid !] = „Antigen“.
[5+6 Toxolipoïd = Toxin = Antigen !]
6
[Syphilisvirus od. Stoffwechselprodukt von ihm.]

Eitner, v. Fenywessy, Fleischmann, Hartoch, Landsteiner, Levaditi, v. Liebermann, Meier, Much, Müller, Neubauer, Noguchi, Porges, Pötzel, Reicher, Sachs, Seligmann, Wassermann, Yamanouchi und vielen anderen wahrscheinlich geworden ist. Wir tragen zu diesem Zweck die wichtigsten Punkte in ein Schema der Komplementbindung ein, betonen aber nachdrücklichst den starken Gehalt an hypothetischen Elementen hierbei und bleiben uns bewußt, daß vieles in Wirklichkeit teils erheblich abweichen, teils viel komplizierter gestaltet sein kann. Es handelt sich eben nur um einen Anschauungsversuch (vgl. Fig.). An der Hand dieses Schemas soll nun erwogen werden, ob sich aus der Zusammenfassung der bisher vorliegenden Einzelergebnisse vielleicht eine sie alle berücksichtigende Theorie des zugrunde liegenden chemischen Gesamtprozesses gewinnen läßt.

Am hypothetischsten und angreifbarsten erscheint mir die Annahme, daß das Antigen, das Syphilisvirus (6) sich mit einem Körperlipoid (5), das die Rolle eines Toxoids spielt, zu einer als Toxin wirkenden Toxolipoidgruppe verbindet. Wäre dem so, dann müßten wir uns vorstellen, daß diese Gruppe durch Bindung an den Antistoff (luetischer Ambozeptor [4]) neutralisiert würde, und daß dieser Ambozeptor durch gleichzeitige Komplementbindung (3) eine Alexin-(Opsonin-)Wirkung (3a) auf das Syphilisvirus (6) vermitteln würde. Mit anderen Worten: Das antistoffhaltige Serum müßte gewisse immunisierende Fähigkeiten aufweisen. Diese werden ihm aber gerade abgesprochen. (Es könnten allerdings die Spirochäten auch „Serumfestigkeit" gewinnen und so den immunisatorischen Effekt wieder paralysieren.) Wahrscheinlicher dünkt mir infolgedessen, daß der Vorgang sich folgendermaßen abspielt. Die Spirochäte zerstört Zellprotoplasma. Dadurch werden Lipoidsubstanzen, vermutlich vor allem Lecithin, frei (5). Möglich, daß die Spirochäteninvasion auch auf andere Weise eine lokale Lipoidvermehrung hervorruft (chemotaktische Vorgänge?), und daß diese Substanzen zunächst unbeteiligten Organen, z. B. dem Zentralnervensystem, entrissen werden. Bei einer gewissen Anhäufung dieser Stoffe beginnt die Antistoffbildung (4), welche sich also nur gegen die Lipoidsubstanzen (5), **nicht** gegen die sich unbehelligt weiter vermehrenden Spirochäten richtet. Die entstehende Gruppenbildung, Komplement(3)-Antistoff(4)-Lipoid, hat erhöhte Lipolyse (Freiwerden von Fett- und Oelsäuren und dadurch Alkaleszenzverringerung) zur Folge. Der ganze Prozeß entschleiert sich also als eine metamorphosierende Einwirkung des seifenartigen Komplementbestandteils (3a) auf die Fettsubstanzen (5), die als Produkt des syphilitischen Prozesses in wahrscheinlich quantitativ und qualitativ schädlicher Form angehäuft werden, durch die Vermittelung des Ambozeptors (4). Wie haben wir uns aber diese Lipoidumformung chemisch vorzustellen? Es bestehen da wohl zwei Möglichkeiten, die im Endeffekt auf dasselbe hinauslaufen würden, nämlich darauf, die schädlich angehäuften Lipoidsubstanzen in eine für den Körper leicht resorbierbare Form überzuführen. Wahrscheinlich ist ja das Lipoid (Lecithin?)

durch eine Einwirkung der Spirochäten und ihres Stoffwechsels so verändert, daß es eine Schädlichkeit für den Organismus darstellt.

Einer gütigen brieflichen Mitteilung des Herrn Hofrat Prof. v. Liebermann nach mischen sich Seifenlösungen sehr gut mit Lecithin; es bilden sich dabei vielleicht lösliche Doppelverbindungen oder mit anderen Worten, Seife und Lecithin vereinigen sich vielleicht zu einer neuen löslichen Verbindung. Das Lecithin wird „verflüssigt“. Ob das im chemischen Sinne eine wahre Lösung ist oder eine dem kolloidalen Zustand ähnliche, äußerst feine Suspension, läßt v. Liebermann noch dahingestellt. In praktischer Hinsicht für die Resorbierbarkeit des Lecithin wird das auch wenig Unterschiede machen.

Dies auf die Vorgänge im Organismus übertragen, würde der Ablauf des Prozesses sich also folgendermaßen gestalten: Der Ambozeptor (4) bindet das Serumalbumin des Komplements (3b). Dadurch wird dessen seifenartiger Bestandteil (3a) frei und schmilzt das Lipoid ein, verflüssigt es, resp. bringt es in kolloidale Suspension (v. Liebermann). In diesem neuen Zustand kann der Körper die Lipoidsubstanzen resorbieren. Die Rolle des Ambozeptors (Serumglobulin?) ist also die, das Komplement zu aktivieren, indem er dem Komplement denjenigen Bestandteil entzieht (Serumalbumin oder Kalksalz), der die Seife ihrer spezifischen Wirkung beraubt. So wird die lecithinlösende Wirkung der Seife frei gemacht.

Es wäre noch eine weitere Möglichkeit der Lipoidbeeinflussung durch das Komplement denkbar; doch erscheint dieselbe viel komplizierter und gezwungener, daher weit weniger wahrscheinlich wie die eben dargelegte. Es handelt sich um folgende Vorstellung: Der Ambozeptor (4) bindet sich nicht nur mit dem Serumalbumin (3b), sondern auch mit der Fettsäure (3a II) der Komplementseife (3a), d. h. die letztere wird gespalten. Das freiwerdende Alkali (3a I) der gespaltenen Komplementseife verbindet sich sofort mit dem Lipoid (5. Lecithin?), d. h. „verseift“ dasselbe. Das Lipoid wird zersetzt, es entsteht das Alkalisalz seiner Fettsäuren und wird in dieser Seifenform resorbiert.

Es würde sich also jedenfalls bei den durch die Wassermannsche Reaktion enthüllten Vorgängen um die zweckmäßige Unschädlichmachung giftiger Nebenprodukte des syphilitischen Prozesses handeln. Die Wassermannschen „Antistoffe“ sind demgemäß als nutzbringend anzusehen, wenn sie auch die Spirochäten (auf deren Anwesenheit und Tätigkeit sie hinweisen) nicht zu schädigen imstande sind.

Ich gebe diese theoretische Darlegung natürlich nur unter allem Vorbehalt als eine noch nicht allseitig gestützte Hypothese aus, ohne jedoch bisher eine andere in Betracht kommende Lösung zu erblicken.

Daß neben diesen lipoidolytischen Vorgängen und unabhängig von ihnen auch andere biologische Phänomene denkbar sind, die dem Versuch des Körpers, eine Immunität herzustellen, förderlich sind, bleibe hier unerörtert.

Die Antistoffproduktion gegen die Lipoidsubstanzen ist als eine Autoimmunisation gegen schädliche Stoffe aufzufassen, deren Auftreten eine Begleiterscheinung der Lues ist. Diese Wassermannschen Antistoffe sind daher ein Indikator für den luetischen Prozeß und haben auch eine nützliche Wirkung, ohne die Lues als solche beeinflussen zu können. Indirekt sind sie also von der Tätigkeit der Spirochäten abhängig, und so lange diese sich halten, so lange treten sie auch auf, z. B. in dem Citronschen Falle 45 Jahre lang! Eine derartige bakterielle dauernde Antikörperproduktion kennen wir nicht. Wenn wir ihr Vorhandensein als Indikation zu weiterer spezifischer Therapie ansehen, so gewiß nicht, weil wir die Antistoffe an sich als schädlich ansehen, sondern weil wir dann Spirochätenherde als noch vorhanden ansehen müssen. Die oben dargelegte Hypothese ist gut vereinbar mit meiner Konstatierung, daß ein weitgehender Parallelismus von Spirochätenanwesenheit und Antigengehalt in Fötalorganen besteht. Wohl können vereinzelte Spirochäten sich finden und das Antigen dann noch nicht nachweisbar sein, oder in schwach antigenhaltigen Organen sind die Spirochäten nicht auffindbar. Doch abgesehen hiervon, besteht eine auffällige Uebereinstimmung. Ich fand dieselbe in 17 positiven und 15 negativen Fällen. Eine rein theoretische Kritik dieser empirischen Feststellung kann ich in keiner Weise als berechtigt anerkennen, wie eine solche z. B. von Schatiloff und Isabolinsky geübt wird (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Therap. 1909. Bd. 1. No. 2. „Antigene der syphilitischen Organe gehen den Spirochäten nicht parallel, da sie nicht ihnen, sondern den veränderten Körpergeweben entstammen"). Nur der mikroskopisch-biologische Nachweis von häufiger und sehr erheblicher Diskrepanz zwischen Antigen- und Spirochätengehalt könnte widerlegen, daß die Antigen-(Lipoid-) anhäufung lokal den Spirochätenherden entspricht, wie ich es meinen Erfahrungen gemäß annehmen muß. Auch aus gelegentlichen Angaben anderer Autoren entnehme ich lediglich eine Bestätigung dieser Ansicht. So war im Fall W. Müller von Wechselmann die Leber nach Levaditi spirochätenfrei (im Ausstrich nur „ganz vereinzelte") und ergab „keinen brauchbaren Extrakt". Und dies trotz einer „sehr schönen Osteochondritis syphilitica". Die Leber seines Falles Ko dagegen zeigte makroskopisch Luesveränderungen und gab positive Reaktionen.

Meine Hypothese vom Wesen der Wassermannschen Reaktion dürfte vielleicht auch auf Aetiologie und Prophylaxe von Tabes und Paralyse einiges Licht werfen. Wassermann und Plaut glaubten, da sie in 78 Proz. der Fälle die Lumbalflüssigkeit der Paralytiker antistoffhaltig fanden, die Paralyse für eine Abnutzungskrankheit durch zu starke Antikörperproduktion ansehen zu müssen. Nach meiner Anschauung beweist der reiche Antistoffgehalt der Lumbalflüssigkeit bei Paralyse des Blutserums (und auch vielfach der Lumbalflüssigkeit) bei Tabes nur, daß gerade in diesen Fällen reichlich Spirochätenherde vorhanden waren. Die Anwesenheit der letzteren mußte aber andererseits eine starke und lang dauernde Lipoid(Lecithin?)abnutzung und Zerstörung zur Folge haben. Nun ist aber gerade dem Zentralnervensystem der höchste Lecithingehalt Bedürfnis. Paralyse und Tabes werden also Abnutzungskrankheiten sein, nicht durch Produk-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Name, Anamnese und Datum	Zeit der Infektion	Luetische Symptome der Mutter	Vater	Hg-Kur d. Mutter	Kind leb. oder tot
1. Stk. II-para. Erstes Kind lebt. Letzte Regel Anf. Juni 06. Partus 20. I. 07	I. X. 06 Verkehr mit anderem sicher luetisch. Mann, der Drüsenschwellung hatte und zurzeit Schmierkur durchmacht. 4.—5. Monat	Kein Exanthem. Dez. 07 Schwellung der l. Leistendrüse der Mutter. Sonst keine Luessympt.	Gesund. Mit dem Uebertrager der Lues nicht identisch	Keine	Tot
2. Mlch. I-para. Ledig. Konzeption 11. II. 07. Letzte (Schwangersch.-) Regel 14. III. 07. Geburt 4. XI. 07. Letzt. Geschlechtsverkehr Ende Sept. 07	29. Juli bis 19. Aug. 7. Monat	Seit etwa 20. X. nässende Papeln an den großen und kleinen Labien	Gesund. Mit dem Uebertrager der Lues nicht identisch	Keine	Tot
3. Völk. I-para. Ledig. Letzte Regel Mitte Okt. 06. Konzeption Anfang Nov. 06. Geburt 19. VI. 07	Infektion ca. 13.—20. März. 5. Monat	(Seit Jan. Ausfluß.) Seit ca. 10. April Ulcus durum an der r. Labie. Bubo ing. sin. Roseola	Gesund. Mit dem Uebertrager der Lues nicht identisch	Keine	Lebend
4. Mehl. Febr. 06 Verkehr. Letzte Regel Mitte März 06. Geburt 8. X. 06	Ca. Anfang Aug. infiziert 5. Monat	Ca. Ende Aug. Primäraffekt an der Clitoris. Drüsenschwellung. Zurzeit nässende Papeln an den Genitalien. Papula luxurians	Zurzeit geschlechtskrank, im Moment der Zeugung wahrscheinlich noch gesund		Tot
5. Jec. VII-para. Letzte Regel Okt. 05. Geburt 29. VI. 06	Im Febr. 06 infiziert. 5. Monat	Condylomata lata. Drüsenschwellung. Impetigo capitis	? Aus dem Status des Kindes ergibt sich, daß dasselbe kaum ex patre syphilitisch ist.	Keine	Lebend
6. Brch. I-para. Ledig. Letzte Regel Jan. 06. Geburt 2. VIII. 06	Infektion Juni 06. 4. Monat		?		Tot
7. Igl. I-para. Letzte Regel Febr. 06. Geburt 29. IX. 06	Ca. 10. Mai 06. infiziert. 3.—4. Monat	Mitte Juli Ulcera an den Labien. Leistendrüsenschwellung. Zurzeit Ekzem. Kleinpapulöse Effloreszenzen	?	Spritzkur	Lebend

Mazeration	Status und luetische Symptome d. Kindes	Placenta	Spirochäten	Antigen	Antistoff
Ja. Ende Dez. 06 hörten die Kindsbewegungen auf	40 cm lang. 1700 g. (VIII mens). ♀ Geburt 16 Wochen nach der Infektion der Mutter	650 g. $20 \times 21 \times 1^1/_2$ cm	+ Leber, Milz, Thymus, Herz, Niere, Hirnhäute, Auge, Uterus. — Nabelschnur, Nabelarterie, Nabelvene, Vena portae, Aorta, Pulmonalis, Lunge Gehirn, Nasenmucosa, Haut, Zwerchfell, Mamma, Magen, Darm		
Kindsbewegungen hören 1 Tag vor der Geburt auf	8—10 Tage zu früh geboren. Blutig-seröse Flüssigkeit im Pericard. Ekchymosen am Pericard. Große Milz. Geburt ca. 13 Wochen nach der Infektion der Mutter	Weißlich	Nase +	Leber und Lunge fraglich. Placenta —	Milchserum —. Pleuraflüssigkeit des Kindes +
Keine	46 cm lang. 2100 g. (IX mens). 3—4 Wochen zu früh geboren. Geburt ca. 14 Wochen nach der Infektion der Mutter			Pacenta + (Zieler, Breslau)	Milchserum +. Placenta —
	Ca. 10 Wochen zu früh geboren. Geburt ca. 10 Wochen nach der Infektion der Mutter		+ in der Papula luxurians der Mutter. — im mütterl. Colostrum, Placenta, Nabelschnur. — in kindl. Leber, Milz, Thymus, Nieren, Augen, Hoden, Penis		
Keine	49 cm lang. 3140 g. (X mens). Geburt ca. 19 Wochen nach der Infektion der Mutter. Anscheinend gesund		— Placenta, Nabelschnur		
	30 cm lang. 1900 g. (VI mens). Fruchtwasser bräunlich. Geburt ca. 8 Wochen nach der Infektion der Mutter	300 g. Anämisch. $12 \times 13 \times 1^1/_2$ cm	+ Milz, Nabelarterie, Nabelvene. — Placenta, Nabelschnur	Milz +	
Keine	Kindsbewegungen waren sehr schwach. 42 cm lang. 1810 g. (IX mens). Ca. 6 Wochen zu früh geboren, ca. 20 Wochen nach der Infektion der Mutter	510 g. $16 \times 18 \times 2^1/_2$ cm	— Placenta, Eihäute, Nabelschnur		

Name, Anamnese und Datum	Zeit der Infektion	Luetische Symptome der Mutter	Vater	Hg-Kur d. Mutter	Kind leb. oder tot
8. Dzat. I-para. Letzte Regel März 06. Geburt 6. XII. 06.	Im Sommer 06 infiziert. Ca. 5. Monat		? Aus dem Status des Kindes ergibt sich, daß dasselbe kaum ex patre syphilitisch ist	Sommer 06 Schmierkur	Lebend
9. Bäck. I-para. Letzte Regel Mai 06. Geburt 25. II. 07.	Mitte Dez. 06 infiziert. 7. Monat	Ende Jan. 07 Drüsenschwellung. Ca. 10. II. 07 Anschwellung der Genitalien. Condylomata lata. Nässende Papeln	?	Keine	Lebend
10. Bonk. Geburt 4. V. 07.	?	Condylomata lata	? Aus dem Status des Kindes ergibt sich, daß dasselbe kaum ex patre syphilitisch ist	Keine	Lebend
11. Dob. I-para. Letzte Regel Ende Febr. 07. Geburt 22. X. 07.	Infektion ca. 5.—25. Juli. 5.—6. Monat	Ca. am 26. IX. Exanthem	?	Zurzeit Schmierkur	Lebend
12. Khl. I-para. Ledig. Letzte Regel 26. XII. 05. Geburt 28. IX. 06.	Infektion ca. 8.—20. März. 3. Monat	März-April 06 Ulcus durum der großen Labie. Leistendrüsen geschwollen	Vater luetisch	Im Mai 5 Tage Schmierkur	Tot
13. Kos. Ledig. Letzte Regel Dez. 05. Geburt 2. X. 06.	Infektion ca. 8.—15. März 06. 3. Monat	Anfang April 06 Ulcus durum an einer Labie. Seit 26. IX. 06 kleine Ulcera an der Vulva und Vagina	Mutter angeblich vom Vater infiziert. Aus dem Status des Kindes ergibt sich, daß dasselbe kaum ex patre syphilitisch ist	4 Wochen Schmierkur	Lebend
14. Cich. Ledig. Geburt im Jan. 07.	Infektion im Okt. 06. 7. Monat	Luetische Erscheinungen erst seit 2 Monaten. Condylomata lata. Induration einer Dammrißwunde	Vater luetisch, hat Hg-Kuren durchgemacht. Es ist nicht anzunehmen, daß das Kind schon ex patre syphilitisch wurde. Placentarer Modus wahrscheinlicher	Keine	Lebend. Exitus nach mehreren Tagen

Mazeration	Status und luetische Symptome d. Kindes	Placenta	Spirochäten	Antigen	Antistoff
Keine	51 cm lang. (X mens). ♂. Anscheinend gesund				Milchserum +
Keine	45 cm lang. (IX mens). Geburt ca. 10 Wochen nach der Infektion der Mutter				Milchserum +
Keine	Anscheinend gesund		— Placenta	Placenta —	
Keine	Wahrscheinlich 4—6 Wochen zu früh geboren, 13—16 Wochen nach der Infektion d. Mutter			Placenta —	Milchserum —. Kindl. Blutserum + (Citron)
	Seit ca. 15. IX. Kindsbewegungen sehr schwach. ♀. 46 cm lang. 2120 g. (Anfang X mens). Ca. 2 Wochen zu früh geboren, 27—29 Wochen nach der Infektion der Mutter	Anämisch. 16×17×1½ cm	+ Leber, Milz, Lunge, Ovarium, Magen. — Placenta, Nabelschnur		
Keine	52 cm lang. 3560 g. ♂. (X mens). Fruchtwasser schwärzlich. Geburt 29—30 Wochen nach der Infektion der Mutter	13×15×1½ cm	— Placenta, Eihäute, Nabelschnur		
Keine	Das Kind stirbt nach mehreren Tagen an Melaena, Pneumonia alba, Osteochondritis syphilitica				

tion der für das Zentralnervensystem vermutlich belanglosen Antistoffe, sondern durch Lipoid-(Lecithin-)abnutzung. Man versteht, warum gerade unbehandelte Fälle so stark zur metasyphilitischen Erkrankung neigen. Ist der dargelegte Gedankengang richtig, und gelingt es, sicher zu ermitteln, welches Lipoid das Antigen im Körper darstellt (etwa das Lecithin), so müßte man durch frühzeitig beginnende andauernde medikamentöse Darreichung eben dieses Lipoids die Entstehung von Paralyse und Tabes zu verhindern suchen.

Nach dieser vielleicht nicht ganz unwichtigen Abschweifung zurück zur Ammenfrage. Eine schädliche Wirkung der in der Milch enthaltenen Antistoffe hat noch niemand nachweisen können. Daß sie von Nutzen zur Paralysierung von im Gefolge der Lues auftretenden Schädlichkeiten sein könnten, glaube ich soeben gezeigt zu haben. Damit wäre die von W. Fischer vermißte Basis für die Verwendung syphilitischer Milch als Medizin gegeben. Abgesehen davon, ist gerade für das schwer bedrohte hereditär luetische Kind die Ernährung an der Mutterbrust doppelt wichtig, weil eine künstliche Ernährung seine Chancen noch beträchtlich verschlechtert. Von diesem Gesichtspunkt aus formuliere ich die Regeln für das Stillen des Kindes bei postkonzeptioneller Infektion nunmehr folgendermaßen:

1) Ist Mutter und Kind sicher syphilitisch, so soll die Frau selbst stillen. Falls sie dazu absolut nicht imstande ist, wäre eine fremde syphilitische Amme zu suchen und anzunehmen (aus öffentlichen Gebäranstalten).

2) Ist das Kind trotz der Lues der Mutter sicher nicht syphilitisch, d. h. geben auch sämtliche früher genannten neueren diagnostischen Methoden übereinstimmend negatives Resultat, so darf das Kind nicht von der Mutter, sondern nur von einer gesunden Amme (deren Einverständnis vorher einzuholen ist!) gestillt werden. Soweit angängig, sind die betreffenden Untersuchungen auf Antistoffe und Spirochäten von Zeit zu Zeit zu wiederholen.

3) Besteht auch nur der geringste Zweifel an der Gesundheit des Kindes, ohne daß die hereditäre Lues sichergestellt ist, so ist die künstliche Ernährung am Platze, um weder das eventuell gesunde Kind durch die kranke Mutter, noch eine gesunde Amme durch das eventuell kranke Kind zu gefährden. Die Profetasche Regel, das gesund scheinende Kind ist ohne Gefahr der kranken Mutter anzulegen, ist wegen seiner relativ häufigen Ausnahmen abzulehnen.

Betont sei nochmals, daß der Antigennachweis in der Placenta Zweifel für die Beteiligung des Kindes bestehen läßt, daß dagegen der Antistoffnachweis ebenso wie ein Spirochätenbefund oder der Nachweis einer Osteochondritis die Luesdiagnose für das Kind sichern. Eine angebliche Immunität des Kindes ist mit unseren heutigen Methoden nicht feststellbar, darf daher in praxi nicht als bestehend vorausgesetzt werden.

Zur Ergänzung füge ich die Stillregeln für den Fall der Geburt nach Collesschem Typus bei:

4) Ist durch Spirochäten oder Antistoffnachweis die Mutter als latent luetisch erkannt, so kann und soll sie das syphilitische Kind selber stillen; im Unvermögensfalle syphilitische Amme.

5) Weist die Mutter keinerlei Luessymptome auf, besteht keine Drüsenschwellung, kein Haarausfall, kein Kopf- oder Gelenkschmerz, ist ihr Blut- und Milchserum dauernd antistofffrei, werden in ihrem Cervixsekret (Lochien!) keine Spirochäten gefunden, war

endlich die Placenta antigenfrei, so ist die Mutter als gesund zu betrachten und für das kranke Kind eine syphilitische Amme anzunehmen.

6) Bestehen Zweifel an der Gesundheit der Frau, so ist trotzdem das Selbststillen kontraindiziert und für das luetische Kind eine luetische Amme indiziert, um keinesfalls die Mutter zu gefährden. Die Collessche Regel, die gesund scheinende Mutter könne ohne Gefahr das kranke Kind anlegen, kann nicht als voll gesichert gelten.

Der Antistoffnachweis im Blut oder Milchserum oder in den Lochien, der Spirochätenbefund im Genitalsekret oder im Drüsenpunktionssaft sichern die Diagnose einer latenten Lues der Frau. Die Leistendrüsenschwellung allein und ein Antigenbefund der Placenta lassen Zweifel offen. Eine angebliche Immunität der Frau ist mit unseren heutigen Methoden nicht nachweisbar, darf daher in praxi nicht als bestehend vorausgesetzt werden.

Mit diesen Regeln habe ich früher aufgestellte Stillregeln (Bakt. u. Biol. d. kong. Syph. Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. 60) dem Wandel der Anschauung über das Wesen der Wassermannschen „Antigene“ und „Antistoffe“ entsprechend modifiziert.

Den v. Dühringschen Standpunkt, jedes gesund scheinende Kind einer postkonzeptionell infizierten Mutter ohne weiteres von einer Amme säugen zu lassen (das Kind sei ansteckbar, also gesund!) kann ich keineswegs teilen. Dazu ist die latente Lues solcher Kinder doch zu häufig. Es muß also, soweit wir dies vermögen, auch eine latente Erkrankung sicher ausgeschlossen sein. Der geringste Zweifel zwingt uns, zur künstlichen Ernährung überzugehen.

Auf p. 270—273 gebe ich eine tabellarische Uebersicht über 14 in der Charité beobachtete Fälle von syphilitischer Infektion der schwangeren Frau. 3 davon sind als „reine“ postkonzeptionelle Fälle (No. 1, 2, 3) zu betrachten, da auch der Vater zur Zeit der Zeugung gesund war. In 7 Fällen war der Status des Vaters nicht eruierbar (No. 5—11). In 4 Fällen (No. 4, 12, 13, 14) wurde die Lues des Vaters zugegeben. Immerhin war auch in diesen 11 Fällen mit zweifelhaftem oder sicher luetischem Status des Vaters 5mal (No. 5, 8, 10, 13, 14) auf Grund des kindlichen Status, 1mal (No. 4), weil der Vater zur Zeit der Zeugung anscheinend gesund war, eine spermatische Infektion mit größter Wahrscheinlichkeit auszuschließen (vgl. die Tabelle).

14. Mai 1909.

Nachdruck verboten.

Veränderungen von Bakterien im Tierkörper.

V. Ueber die Widerstandsfähigkeit tierischer Milzbrandbacillen.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag. Vorstand: Prof. F. Hueppe.]

Von Dr. **H. Toyosumi**, Tokio (Japan).

A. Formveränderung der tierischen Bacillen des Milzbrandes in tierischen Flüssigkeiten.

Seitdem Johne im Jahre 1893 zuerst die Kapselbildung des Milzbrandbacillus in vitro nachgewiesen hatte, wurde dieselbe später von vielen Autoren festgestellt; namentlich in neuerer Zeit wurden auch die Bedingungen ihres Auftretens genau studiert. Unter denjenigen Autoren, welche über dieses Thema arbeiteten, sind Serafini, Sawtschenko, Danysz, Deutsch, Ascoli, Preisz, Löhlein, Gruber und Fu-

taki und **Bail** zu nennen. Dieselben gelangten einstimmig zu dem Schlusse, daß die tierischen Bacillen des Milzbrandes nicht nur morphologisch einen deutlichen Unterschied (kapselhaltig, dick und plump) gegenüber Kulturbacillen zeigen, sondern auch physiologische Unterschiede aufweisen, indem die tierischen Bacillen widerstandsfähiger gegen die Phagocytosenwirkung der Leukocyten sowohl im Tierkörper als auch in vitro sind, während die Kulturbacillen derselben sehr leicht unterliegen. Ueberdies nehmen einige Autoren an, daß die tierischen Bacillen auch gegen Serumwirkung weit resistenter als die künstlich gezüchteten sind, eine Anschauung, die durch unsere eigenen Versuche auf ihre Richtigkeit geprüft werden sollte.

Herr Prof. **Bail** fand bei Fortsetzung seiner Untersuchungen über die Bedingungen der Kapselbildung des Milzbrandbacillus (Centralbl. f. Bakter. etc. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. Heft 6), daß die tierischen Bacillen durch Aufenthalt in tierischen Flüssigkeiten, vor allem in normalem Serum, eine unter dem Mikroskop deutlich nachweisbare weitere Formveränderung eingehen, und forderte mich auf, diese bisher noch nicht veröffentlichten Beobachtungen fortzusetzen. Gleichzeitig damit sollten Tier- und Kulturbacillen einer vergleichenden Untersuchung über ihr Verhalten in bakteriziden Plattenversuchen unterzogen werden. Die mikroskopischen Befunde schienen nämlich darauf hinzudeuten, daß die Transformation der tierischen Bacillen gerade ein Zeichen der schwächeren Widerstandsfähigkeit im Vergleich mit Kulturbacillen sein könnte. Das würde in guter Uebereinstimmung mit der von **Bail** ausgesprochenen Annahme stehen, daß es sich bei dem Tierischwerden der Bacillen um einen abnormen Krankheitszustand handle (vgl. dazu **Bail**: Einiges über Infektion und Infektionskrankheiten und Analyse des Virulenzbegriffes, in Folia serologica. Bd. 1. 1908. p. 65, 402).

Wenn man Tierbacillen direkt aus dem mit Milzbrandbacillen infizierten Tiere oder auch Bacillen, die durch Züchtung in irgendeinem aktiven Serum (normales Kaninchen-, Meerschweinchen-, Rinder- oder Rattenserum) künstlich zu tierischen gemacht wurden und morphologisch ganz dasselbe Aussehen wie Tierbacillen zeigen, eine Zeitlang mit einem normalen aktiven Serum (Kaninchen-, Meerschweinchen- oder Rattenserum) in vitro in Berührung bringt, so bemerkt man bei geeigneter Temperatur (am besten bei 42° C) eine deutliche Formveränderung. Die Bacillen, welche anfangs durch Karbolmethylenblaufärbung sowohl in ihrer Leibes- als auch ihrer Kapselsubstanz gut färbbar sind, werden schwer färbbar, bis schließlich der Leib blaß erscheint, während die Kapselsubstanz noch deutlich den Farbstoff aufnimmt; in diesem Stadium zeigen sich die Bacillen von zwei dicken, parallelen, geraden Linien begrenzt, ein Aussehen, das dem einer leeren Röhre mit stark hervortretender Kontur ähnelt. Wir nennen diese Veränderung die **Abblassung** des Milzbrandbacillus. Mit der Zeit werden die beiden geraden Linien deutlich runzelig oder zeigen sogar stellenweise eine mehr oder minder starke Abknickung. Endlich zerteilen sie sich in kleinen Stückchen von verschiedener Anzahl, und man sieht in diesem Stadium in den Präparaten sehr viele, relativ dicke, meist an den Enden scharf abgeschnittene Bändchen. Dies ist das letzte Stadium der Formveränderung, welche nach 2—3 Stunden bei 37—42° C deutlich bemerkbar ist. Wir schlagen vor, dieses Stadium die **Fragmentation** des Milzbrandbacillus zu nennen. Meistens schon in diesem Stadium oder selten noch später findet man in den Präparaten hier und da einen weiteren Fortschritt der Veränderung, welche höchstwahrscheinlich als ein Rückbildungsvorgang betrachtet werden sollte. Es tritt nämlich eine gut färbbare Stelle in einer Partie oder mehreren Abschnitten, manchmal in der Mitte, manchmal an den Enden der auf die erwähnte Weise stark veränderten Milzbrandfäden auf. Weiter verbreiten sich diese gut färbbaren Partieen in den abgeblaßten Milzbrandfäden meist per continuitatem entlang der Länge, einerseits nach der Mitte, andererseits nach außen hin; nie aber wachsen sie nach der queren Richtung aus. Manchmal färbt sich dann ein Teil der Fäden intensiv, während andere Teile derselben ganz blaß bleiben. Schließlich bilden sich aus diesen Gebilden typische Milzbrandkulturbacillen aus. Es fiel uns auf, daß die auf diese Weise gebildeten Bacillen niemals tierisch ausgewachsen sind, sondern stets zu Kulturbacillen wurden. Die ganze, leichter zu beobachtende als zu beschreibende Formveränderung erweckte den Eindruck, als ob die durch den tierischen Zustand bedingte Substanzveränderung des Bacillus sehr leicht der Zerstörung anheimfiele. Dabei kann das Leben vollständig erlöschen oder aber es bleibt Bakterienplasma noch lebensfähig, das dann den normalen saprophytischen Zustand des Kulturbacillus annimmt.

Bringt man dagegen Kulturbacillen in Serum, welches nicht, wie z. B. Kaninchenserum, exquisit bakterizid ist, so bemerkt man keine derartigen Vorgänge. Dieselben behalten im Anfang der Untersuchung ihre originale Gestaltung bei, werden dann allmählich dicker und plumper und sind endlich nach 4—5 Stunden typisch tierisch gewachsen.

Die Ursache der Abblassung und Fragmentation tierischer Bacillen muß im Serum selbst gelegen sein. Alle untersuchten Sera können diese Formveränderungen herbeiführen, aber in quantitativ sehr verschiedenem Grade. Dieselbe ist im Meerschweinchenserum sehr schwach vorhanden, weit stärker aber und fast in gleichem Grade im Kaninchen- und Rattenserum. Die lebenden Leukocyten dieser Tiere besitzen eine derartige Fähigkeit nicht.

Wir benutzten für unsere Versuche zwei Stämme von Milzbrand. Der eine stammt ursprünglich von Prof. Sobernheim, hat seit Jahren große Reihen von Tieren passiert und ist vollvirulent. Er tötet Kaninchen, Meerschweinchen und Mäuse bei subkutaner Impfung in jeder Dosis. Speziell für die vorliegenden Versuche wurde festgestellt, daß jede mit 1 Oese Agarkultur intraperitoneal infizierte Maus innerhalb 12 Stunden starb und im Bauchhöhlenexsudate massenhaft typische Kapselbacillen hatte. Der andere Stamm „Lissa“ wurde von Prof. Bail bei Gelegenheit der Feststellung einer Epidemie von Rindermilzbrand in Lissa (Böhmen) aus dem Boden eines Rinderstalles gezüchtet, welcher mit Kalkmilch ausgiebig desinfiziert worden war. Er verhält sich bisher, obwohl er im Laboratorium nie einem Abschwächungsverfahren ausgesetzt wurde, bis zu einem Grade wie ein Vaccin, ruft wenig typisches, leicht eiterig werdendes Oedem bei subkutaner Impfung hervor; die Septikämie der schließlich gestorbenen Tiere ist wenig ausgesprochen. Merkwürdig ist, daß er diesen Charakter bisher trotz wiederholter Tierpassagen beibehalten hat. Bei der hier angewendeten intraperitonealen Impfung an Mäusen trat der Tod immer nach längerer Zeit als 12 Stunden ein, und das gewonnene Exsudat war nur selten so reich an tierischen Bacillen wie beim Sobernheimschen Stamme. Meist lieferten die Tiere nur relativ wenige Kapselbacillen.

Dieser Unterschied beider Milzbrandstämme war nicht nur bei Ver-

wendung von Mäusen, sondern auch von Meerschweinchen und Kaninchen etwa in gleichem Maße nachzuweisen. Ferner ließ sich der Stamm Lissa von dem Stamm Sobernheim dadurch deutlich unterscheiden, daß er bei der Züchtung in normalen aktiven Tierseren keine vollkommene tierische Veränderung zeigte; nach 12 Stunden bei Bruttemperatur zeigten die in frisches aktives Kaninchenserum eingesäten Kulturbacillen meist ihre originale Form, nur vereinzelt tierischer Natur. Infolge dieser Abnormitäten des Stammes Lissas erwies er sich für unsere weiteren Untersuchungen nicht geeignet, und wir haben uns demnach hauptsächlich mit dem Stamm Sobernheim beschäftigt.

Versuchsanordnung: Zum Zwecke der Gewinnung der Tierbacillen wurde spät am Abend 1 Oese frische Agarkultur in 1—1,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und einer Maus intraperitoneal injiziert. Am nächsten Morgen fanden wir das Tier regelmäßig tot. Das Bauchhöhlenexsudat wurde mit einer sterilen Pipette abgesaugt, hierauf die zurückgebliebenen Exsudatreste mit steriler physiologischer NaCl-Lösung abgespült, mit dem reinen Exsudat zusammengemischt; nach der Mikroskopierung der gewonnenen Flüssigkeit, in welcher jedesmal Unmassen von Kapselbacillen, gar keine oder nur vereinzelte Leukocyten aufzufinden waren, wurde dieselbe schnell abzentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgegossen und der Bodensatz in steriler Bouillon aufgeschwemmt und zum Versuche verwendet. Man muß sämtliche Prozeduren möglichst rasch vollführen, damit man einerseits Verunreinigungen vermeidet, andererseits möglichst frische Tierbacillen zur Verfügung hat. Es muß besonders betont werden, daß die Bouillonaufschwemmung des abzentrifugierten Bodensatzes, aus welcher später die Einsaat hergestellt wird, unmittelbar vor dem Gebrauch der Bacillen gemacht werden soll, weil der tierische Charakter der Bacillen durch langes Verweilen in Bouillon mehr oder minder geschädigt wird. Ueberdies wurden auch in aktivem Serum gezüchtete, künstlich tierisch gemachte Bacillen für die Versuche verwendet. Zu dem Zwecke haben wir meist frische Agarkultur mit der Oese in frischem aktiven Kaninchenserum gezüchtet, selten auch in aktivem Rinderserum. Beide schienen ungefähr gleich stark die Kulturbacillen tierisch zu verändern. Man mußte aber zum Kaninchenserum eine recht große Menge der Kulturbacillen zusetzen, weil dasselbe, wie es bekannt ist, gegen Milzbrandbacillen ungeheuer stark bakterizid wirkt, was beim Rinderserum nicht der Fall ist. Die in aktivem Serum (Rinder- oder Kaninchenserum) eingesäten Kulturbacillen wurden ca. 12 Stunden lang im Brutschrank belassen. Jedesmal haben wir am Abend die Bacillen im Serum eingesät, über Nacht im Brutschrank belassen und am nächsten Morgen für den Versuch benutzt. Die im Serum tierisch gewachsenen Bacillen wurden nach mikroskopischer Kontrollierung abzentrifugiert, der Bodensatz in steriler Bouillon aufgeschwemmt, etwa in gleicher Konzentration mit der Bouillonaufschwemmung der direkt aus dem Tiere gewonnenen Bacillen und für den Versuch angewandt. Auch in diesem Falle haben wir möglichst ein zu langes Verweilen der Bacillen in Bouillon vermieden. Als Kontrollen von echten Kulturbacillen haben wir immer frische Bouillonkultur verwendet, niemals die Agarkultur, weil die Milzbrandbacillen in Bouillon ein mehr gleichmäßiges Aussehen wie in der Agarkultur zeigen, außerdem die starke Sporenbildung der Agarkultur leicht das Resultat verhindert. Die Leukocyten des Meerschweinchens und der Ratte wurden durch intraperitoneale Bouilloninjektion, die des Kaninchens durch intra-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

pleurale Aleuronatinjektion gewonnen und wurden 2mal mit physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und gleichmäßig in die Röhrchen verteilt.

Das Röhrchen I enthielt Leukocyten mit 0,5 ccm Serum, das Röhrchen II 0,5 ccm Serum allein, das Röhrchen III Leukocyten mit 0,5 ccm NaCl-Lösung, und das Röhrchen IV 0,5 ccm NaCl-Lösung allein. In gleicher Anordnung wurden im ganzen 12 Röhrchen hergestellt, und in die Röhrchen von I bis IV eine Bouillonaufschwemmung von Tierbacillen, von V bis VIII eine solche von im Serum gezüchteten tierischen Bacillen, und von IX bis XII die Bouillonkulturbacillen überall gleichmäßig mit der Pipette eingesät. Von jedem Röhrchen wurden von Zeit zu Zeit beim Aufenthalt im Wasserbad (40—42° C) mikroskopische Präparate angefertigt, mit Karbolmethylenblau gefärbt und genau untersucht. Nach 1 Stunde zeigten die Tierbacillen und die im Serum gezüchteten, tierisch gewordenen Bacillen im Serum und Leukocytenserumgemisch eine ziemlich deutliche Abblassung und spärliche Fragmentation, welche nach 2 Stunden am stärksten auftraten (besonders stark im Kaninchen- und Rattenserum, etwas schwächer im Rinderserum, am schwächsten im Meerschweinchenserum). Nach 3 Stunden sahen wir hier und da neue Kulturbacillen, welche von stark veränderten, Abblassung und Fragmentation zeigenden Fäden ausgewachsen waren. Nach 4 Stunden wurden die Abblassung und Fragmentation spärlicher, während sich gut gefärbte Kulturbacillen und die Uebergangsformen von Abblassung und Fragmentation zu Kulturbacillen stark vermehrten; die Zeit, in welcher diese Veränderung eintrat, war nicht immer gleich, sondern je nach den Seren verschieden. Der Zusatz von Leukocyten zum Serum schien uns keinen besonderen Einfluß zu ergeben, um dieselbe Veränderung zu erzeugen. In beiden Eprouvetten vom Serum allein und Leukocytenserumgemisch zeigten die Bacillen gleich stark dieselbe Formveränderung. Der Unterschied der Intensität der Veränderung zwischen den Tierbacillen und den im Serum tierisch ausgewachsenen Bacillen war dagegen ziemlich eklatant. Bei den ersteren trat die Veränderung viel schneller und deutlicher als bei den letzteren auf. In NaCl-Lösung allein sowie im Leukocyten-Kochsalzlösungsgemisch waren nie derartige Veränderungen der Bacillen zu sehen, sondern die Tierbacillen nahmen in beiden Flüssigkeiten allmählich das Aussehen von Kulturbacillen an. Die als Kontrolle genommenen Kulturbacillen zeigten nie solche Veränderungen. Nur war die allmähliche Umwandlung der Kulturbacillen zu tierischen Bacillen im Serum und Leukocytenserumgemisch zu beobachten.

Bei diesen Untersuchungen haben wir gleichzeitig auf Erscheinungen der Phagocytose geachtet. Dabei konnten wir konstatieren, daß die Kulturbacillen in jedem Medium ziemlich stark von den Leukocyten gefressen werden, während die beiden anderen sich fast absolut widerstandsfähig gegen dieselben verhalten.

Dieselben Versuche wurden wiederholt mit den Leukocyten und dem Serum von Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen unternommen. Wie wir schon eingangs zusammenfassend erörtert haben, haben wir immer fast das gleiche Resultat erzielt.

Aus den Versuchen geht hervor, daß das aktive normale Serum des Kaninchens, Meerschweinchens und der Ratte die Fähigkeit besitzt, eine morphologische Veränderung der tierischen Milzbrandbacillen zu erzeugen. Es unterliegt keinem Zweifel, daß dieselbe ausschließlich auf die Serumwirkung zurückgeführt werden muß, weil die Leukocyten diese Wirkung weder abschwächen noch verstärken. Wir sind aber nicht

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

imstande, zu entscheiden, welcher Anteil des Serums dabei die Hauptrolle spielt.

Aus diesen Befunden bei mikroskopischer Untersuchung lassen sich einige Schlüsse ziehen. Wären die tierischen Bacillen wirklich gegen die Wirkung der Körpersäfte widerstandsfähiger als Kulturbacillen, so wäre das Auftreten dieser auffallenden Formveränderungen schwer verständlich. Diese sehen ganz so aus wie Degenerationserscheinungen, welche hauptsächlich jene Anteile des Bacillus betreffen, die sich durch die Wirkung des tierischen Organismus verändert haben. Das Leben des Bakterienplasmas kann dabei weiter bestehen, wie sich in dem oft beobachteten Auswachsen von Fragmentation zu Kulturbacillen leicht erkennen läßt.

Eine andere Frage ist es, ob diese Veränderungen der Bakteriensubstanz in einem direkten Zusammenhange mit der Säftebakterizidie stehen. Unsere eigenen Versuche lassen eine Entscheidung noch nicht zu. Für einen solchen Zusammenhang würde sprechen, daß Meerschweinchenserum (mit fehlender Bakterizidie) schwächer fragmentierend wirkt als Kaninchenserum. Dabei aber darf man nicht außer Acht lassen, daß das letztere auf Kulturbacillen tötend einwirkt, ersteres nicht. Es kann daher in beiden Seris Fragmentation eintreten, aber sie ist im Kaninchenserum mit Tötung des Plasmas verbunden, im Meerschweinchenserum nicht, so daß in diesem die Fragmentation nur scheinbar schwächer ist, weil die Bacillen schließlich weiter wachsen, während im Kaninchenserum Sterilität eintritt. Jedenfalls ist von einer besonderen Widerstandskraft der tierischen Bacillen im Reagensglasversuche nichts zu sehen, im Gegenteil sind die morphologischen Veränderungen des animalisierten Zustandes sehr sinnfälliger Natur. Es scheint auf die Richtigkeit der Anschauung hinzudeuten, daß die Animalisierung des Milzbrandes eine Krankheitserscheinung des Bacillus ist, daß die infolgedessen veränderten Anteile des Bacillenleibes sehr vulnerabler Natur sind und leicht zugrunde gehen. Selbstverständlich kann deswegen das Auftreten dieser Krankheit des Bacillus von großer Bedeutung für seine infizierende Kraft dem Tierkörper gegenüber sein, besonders wenn, wofür manches spricht, die Ausbildung des tierischen Zustandes mit der Bakterienaggressivität zusammenhängt. Diese wäre dann an den animalisierten Zustand des Bacillus gebunden und die Aggressine wären nichts anderes als krankhaft veränderte, unter Umständen nach außen abgegebene Anteile des Zellleibes, die unter dem Einflusse des tierischen Organismus sich bilden und in diesen wieder leicht abgegeben werden können. In dieser Richtung bewegen sich neuere Untersuchungen über die Natur des Milzbrandaggressins.

Unzweifelhaft ist die Widerstandskraft der animalisierten Bacillen gegen Phagocyten, wobei es wieder sehr auffällig ist, daß isolierte, in indifferenten Medien befindliche Leukocyten von Kaninchen, Meerschweinchen oder Ratte weder die Bildung von tierischen Bacillen aus Kulturbacillen herbeiführen, noch irgendeine mikroskopisch sichtbare Wirkung auf bereits animalisierten Milzbrand ausüben.

Im Plattenversuche allerdings läßt sich, wie später zu erwähnen sein wird, eine Abtötung nicht verkennen.

Es ist zu hoffen, daß diese vorläufig in ihrer Deutung noch ganz unklaren Feststellungen später zu richtigem Aufschlusse führen werden.

Daß ein Parallelismus zwischen Phagocytose und Leukocytenbakterizidie nicht vorhanden sein muß, ist bei verschiedenen Mikroorganismen durch Weil, Weil und Toyosumi, Tsuda und Toyosumi (im Erscheinen begriffen im Arch. f. Hyg.) nachgewiesen worden, und tritt auch bei den nunmehr zu besprechenden Plattenversuchen deutlich hervor, wo tierische, der Phagocytose nicht zugängliche Milzbrandbacillen dennoch der Wirkung isolierter und mit Serum gemischter Leukocyten erlagen.

B. Bakterizide Plattenversuche mit tierischen Bacillen und Kulturbacillen.

Nachdem die oben erwähnten Tatsachen festgestellt waren, lag der Gedanke nahe, zu untersuchen, inwiefern Unterschiede zwischen tierischen und Kulturbacillen im bakteriziden Plattenversuche auftreten würden. Die in dieser Richtung angestellten Versuche ergaben im großen und ganzen ein vollkommen mit unserer Erwartung übereinstimmendes Resultat. Die Versuche wurden in großer Zahl mit Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten und Hühnern angestellt. Wir haben die tierischen und Kulturbacillen gleichzeitig mit demselben Materiale parallel untersucht. Die ganz analoge Versuchsanordnung, wie wir sie bei dem vorangehenden Abschnitte (A.) dieser Arbeit genau angegeben haben, haben wir auch hier verwendet. Die einzige Differenz bestand darin, daß die im Serum gezüchteten tierischen Bacillen hier nicht untersucht wurden, und ferner einige Male auch der Stamm Lissa verwendet wurde. Als Einsaat wurde stets ein Tropfen einer verdünnten Bouillonaufschwemmung tierischer Bacillen und frische Bouillonkultur gewählt. Die Platten wurden nach 4 Stunden Aufenthalt der Proben im Brutschrank ausgegossen.

Zunächst haben wir die Wirkung von Meerschweinchenleukocyten und Serum untersucht. Zu den Versuchen I und II haben wir je zwei Meerschweinchen von etwa 400 g, und zu den Versuchen III und IV je eins zur Gewinnung der Leukocyten angewandt. Die beifolgenden Tabellen zeigen die Versuchsresultate.

Versuch I.

Mit Meerschweinchenserum und -leukocyten.
(St. Sobernheim.)

		Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1)	Leukocyten + 0,5 Serum	steril	steril
2)	Leukocyten + 0,5 Serum 56°	steril	1 000
3)	0,5 Serum	1 500	20 000
4)	0,5 Serum 56°	3 000	25 000
5)	Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	steril	1 000
6)	0,5 NaCl-Lösung	40 000	40 000
	Einsaat	2 800	3 500

Versuch II.

Mit Meerschweinchenserum und -leukocyten.
(St. Sobernheim.)

		Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1)	Leukocyten + 0,5 Serum	steril	250
2)	Leukocyten + 0,5 Serum 56°	20	1 500
3)	0,5 Serum	2 500	9 500
4)	0,5 Serum 56°	6 000	9 800
5)	Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	steril	1 300
6)	0,5 NaCl-Lösung	40 000	45 000
	Einsaat	3 000	3 500

Versuch III.

Mit Meerschweinchenserum und -leukocyten.
(St. Sobernheim.)

	Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1) Leukocyten + 0,5 Serum 56°	steril	1 000
2) Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	2 000	4 000
3) 0,5 Serum	20 000	22 000
4) 0,5 Serum 56°	40 000	45 000
5) 0,5 NaCl-Lösung	36 000	60 000
Einsaat	4 500	3 500

Versuch IV.

Mit Meerschweinchenserum und -leukocyten.
(St. Lissa.)

	Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1) Leukocyten + 0,5 Serum 56°	214	10
2) Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	142	376
3) 0,5 Serum	6 800	7 500
4) 0,5 Serum 56°	10 000	30 000
5) 0,5 NaCl-Lösung	13 000	18 000
Einsaat	2 000	1 900

In den Tabellen bemerkt man sofort, daß zwischen den tierischen Bacillen und Kulturbacillen sowohl des Stammes Sobernheims als auch des Stammes Lissa kein großer Unterschied der Widerstandsfähigkeit gegenüber den Leukocyten und dem Serum des Meerschweinchens vorhanden ist. Die tierischen Bacillen zeigen keine Spur von stärkerer Widerstandsfähigkeit gegen Säftebakterizidie und gegen die bakterizide Kraft der Leukocyten. Vielmehr scheint uns bei sämtlichen Versuchen gerade das Gegenteil der Fall zu sein. So z. B., wie es aus den Tabellen ersichtlich ist, wirkten die Leukocyten in aktivem Serum und Kochsalzlösung stärker bakterizid bei den tierischen Bacillen als bei den Kulturbacillen. Bei den Versuchen I und II ist dieser Unterschied am deutlichsten bemerkbar. Obzwar bei beiden genannten Versuchen ein Unterschied in der Zahl der eingesäten Keime vorhanden ist, so ist derselbe doch nicht so groß, und in beiden Fällen haben die Kochsalz-Leukocytenaufschwemmung die eingesäten tierischen Bacillen vollständig abgetötet, so daß die Platten Sterilität zeigten, während die Kulturbacillen in dieser Flüssigkeit noch ziemlich reichlich auf der Platte ausgewachsen sind. Die Ursache dieser Erscheinung ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß die tierischen Bacillen sich im Tierkörper mehr oder minder stark mit einem Immunkörper beladen haben, und daß während des Versuches diese Immunkörper in Tätigkeit getreten sind. Ganz analoges Verhalten scheint uns in Leukocytenaufschwemmung im aktiven Serum vorhanden zu sein.

Die Versuche mit Kaninchenserum und -leukocyten zeigen auch keinen wesentlichen Unterschied der Widerstandsfähigkeit der tierischen Bacillen und der Kulturbacillen.

Versuch V.

Mit Kaninchenserum und -leukocyten.
(St. Sobernheim.)

	Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1) Leukocyten + 0,5 Serum 56°	steril	steril
2) Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	800	5 000
3) 0.5 Serum	steril	steril
4) 0,5 Serum 56°	steril	steril
5) 0,5 NaCl-Lösung	45 000	50 000
Einsaat	2 800	4 000

Versuch VI.

Mit Kaninchenserum und -leukocyten (Leukocyten stark blutig!).
(St. Sobernheim.)

	Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1) Leukocyten + 0,5 Serum 56°	3800	3 500
2) Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	2000	6 000
3) 0,5 Serum	steril	steril
4) 0,5 Serum 56°	10	105
5) 0,5 NaCl-Lösung	40 000	50 000
Einsaat	3 000	3 500

Auch bei den Versuchen mit Kaninchenserum und Leukocyten traten die oben erwähnten Tatsachen ebenso deutlich wie bei den Versuchen mit Meerschweinchenserum und Leukocyten auf. Wie es schon bei der Beschreibung der mikroskopischen Versuche angedeutet wurde, wurde die starke bakterizide Wirkung des Kaninchenserums gegen Milzbrandbacillus hier deutlich nachgewiesen. Und zwar hat das inaktive Serum in beiden Fällen (Versuch V und VI) allein sehr stark bakterizid gewirkt. Bei dem Versuch VI waren die Leukocyten stark blutig, worin die Ursache der relativ geringeren Leukocytenwirkung zu suchen ist. Es ist ja bekannt und mehrfach von den Autoren hervorgehoben, daß man mit blutigen Leukocyten keine guten Resultate erhalten kann und solche daher gar nicht verwenden sollte. Da aber unsere Versuche darauf ausgingen, Unterschiede der Widerstandsfähigkeit der tierischen und Kulturbacillen zu untersuchen, so haben wir, trotz der blutigen Leukocyten, den Versuch ausgeführt. Tatsächlich hat sich auch unter diesen Umständen keinerlei Verschiedenheit zwischen Tier- und Kulturbacillen ergeben.

Für die Versuche mit Rattenserum und Leukocyten wurden je 4 Ratten verwendet. Die Leukocyten wurden zusammengemischt, in 6 Teile geteilt und zur Untersuchung angewendet. So haben wir eine sehr große Menge von Leukocyten für jeden Versuch benutzt.

Versuch VII.

Mit Rattenserum und -leukocyten.
(St. Sobernheim.)

	Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1) Leukocyten + 0,5 Serum	10	steril
2) Leukocyten + 0,5 Serum 56°	3 000	2 500
3) 0,5 Serum	15	10
4) 0,5 Serum 56°	10 000	8 000
5) Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	1 500	2 800
6) 0,5 NaCl-Lösung	26 000	60 000
Einsaat	4 500	3 500

Wie die Tabelle zeigt, stimmt der Versuch im großen und ganzen mit denen mit Meerschweinchen und Kaninchen überein. Das aktive Rattenserum wirkte ziemlich stark bakterizid, wie das Kaninchenserum. Dagegen wirken die Leukocyten trotz Anwendung größerer Anzahl nicht stark bakterizid. Wir haben die Versuche mit Ratten sehr oft wiederholt und jedesmal dasselbe Resultat erzielt.

Die Versuche mit Hühnerserum und -leukocyten haben das gleiche Resultat wie die anderen erbracht. Die angewandte Leukocytenmenge war bei beiden Versuchen (Versuch VIII und IX) sehr gering, so daß jede die Leukocyten enthaltende Eprouvette nur leichte Trübung zeigte, während bei den Versuchen mit Meerschweinchen-, Kaninchen- und Rattenleukocyten die Kochsalz-Leukocytenaufschwemmung stets starke milchige Trübung zeigte.

Versuch VIII.

Mit Hühnerserum und -leukocyten.
(St. Sobernheim.)

	Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1) Leukocyten + 0,5 Serum 56°	steril	steril
2) Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	steril	steril
3) 0,5 Serum	5 000	22 000
4) 0,5 Serum 56°	5 800	30 000
5) 0,5 NaCl-Lösung	30 000	60 000
Einsaat	2 000	4 200

Versuch IX.

Mit Hühnerserum und -leukocyten.
(St. Sobernheim.)

	Tierbacillen aus Maus	Kulturbacillen
1) Leukocyten + 0,5 Serum 56°	steril	steril
2) Leukocyten + 0,5 NaCl-Lösung	steril	1
3) 0,5 Serum	7 500	15 000
4) 0,5 Serum 56°	9 000	25 000
5) 0,5 NaCl-Lösung	35 000	60 000
Einsaat	2 200	3 800

Aus beiden Tabellen geht wiederum hervor, daß die tierischen Bacillen auch in diesem Falle keine stärkere Widerstandsfähigkeit als die Kulturbacillen besitzen. Ein Unterschied zwischen beiden Bacillen scheint uns hier überhaupt nicht vorhanden zu sein; die beiden verhalten sich gegen Hühnerserum und -leukocyten ganz gleich. Sie wachsen im aktiven und inaktiven Hühnerserum ungefähr gleich stark oder wenig stärker in letzterem wie in ersterem. Jedenfalls hat die Inaktivierung des Serums keinen wesentlichen Einfluß auf Serumbakterizidie ausgeübt. Die Leukocyten des Huhnes wirken sehr stark bakterizid gegen Milzbrand, denn die Leukocyten vermochten trotz ihrer geringeren Anzahl in inaktivem Serum und Kochsalzlösung die Keime vollständig abzutöten. Bei genauer Betrachtung der Tabellen findet man einen gewissen Unterschied zwischen den tierischen und Kulturbacillen darin, daß die ersteren in ihrer Vermehrungsgeschwindigkeit im aktiven und inaktiven Serum gegenüber den letzteren zurückbleiben. Es ist zu vermuten, daß die vorher an den tierischen Bacillen eintretende Fragmentation diese Verzögerung veranlaßt, bis dann die zu Kulturbacillen gewordenen Keime die normale Vermehrung zeigen.

Die Resultate unserer Untersuchungen lassen sich in folgende Sätze kurz zusammenfassen:

1) Die direkt aus dem Tiere gewonnenen tierischen Bacillen oder die im Serum tierisch gewachsenen Bacillen des Milzbrandes zeigen eigenartige Formveränderung bei weiterem Aufenthalt im aktiven Serum (am besten bei 42° C). Diese Formveränderung, welche sich leicht unter dem Mikroskop nachweisen läßt, nennen wir dem Aussehen nach Abblassung und Fragmentation.

2) Eine solche Formveränderung tritt bei den Kulturbacillen in denselben Flüssigkeiten nie auf.

3) Die Ursache dieser Formveränderung ist wahrscheinlich auf die Wirkung des Serums zurückzuführen.

4) Diese Wirkung des Serums ist im Meerschweinchenserum schwach, im Kaninchen- und Rattenserum ziemlich stark vorhanden.

5) Ob diese Serumwirkung in direktem Zusammenhange mit der Serumbakterizidie steht, wissen wir nicht.

6) Daß die tierischen Milzbrandbacillen gegen Körpersäfte und Zellen widerstandsfähiger als die Kulturbacillen sind, konnten wir mit den Leukocyten und dem Serum der Meerschweinchen, Kaninchen, Ratten und Hühner mittelst bakterizider Plattenversuche nicht konstatieren; vielmehr zeigten die Versuche in manchen Fällen gerade das Gegenteil.

Schließlich möchten wir nochmals betonen, daß wir für die Anschauung, daß die tierischen Milzbrandbacillen widerstandsfähiger als die Kulturbacillen sind, keinen sicheren Anhaltspunkt finden konnten.

Literatur.

1) **Ascoli**, Pubblicazione dell'Istituto sieroterap. Milanese. Vol. 3. 1907. No. 9—10.
2) **Bail**, Centralbl. f. Bakter. etc. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. Heft 6.
3) — —, Prager med. Wochenschr. Bd. 33. 1908. No. 6.
4) — —, Folia serologica. Bd. 1. 1908.
5) **Bail** und **Pettersson**, Centralbl. f. Bakter. etc. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904.
6) **Deutsch** und **Feistmantel**, Die Impfstoffe und Sera.
7) **Danysz**, Ann. de l'Inst. Past. 1889.
8) **Gruber** und **Futaki**, Centralbl. f. Bakter. etc. Abt. I. Referate. Bd. 38. 1906. Beiheft.
9) — —, Münchener med. Wochenschr. 1907. No. 6.
10) **Johne**, Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 19. 1893.
11) **Löhlein**, Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. Referate. Bd. 38. 1906. Beiheft.
12) **Preisz**, Pester med. chirurg. Presse. 1907. No. 28. — Centralbl. f. Bakter. Abt. I. Orig. Bd. 44.
13) **Serafini**, zit. nach Baumg. Jahresber. Bd. 4. 1888.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über die passive Immunität bei Hühnercholera.

[Aus dem Hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag.]

Von Dr. **Otto Schöbl**, Philadelphia, Pa., U. S. A.

Die bisherigen Untersuchungen über das Wesen der Hühnercholeraimmunität haben das Resultat ergeben, daß weder die aktive, durch Aggressin erzeugte, noch die passive, sich in das Schema der bakteriziden Immunität einreihen läßt. Beim aktiv immunisierten Tiere findet man in den nach der Infektion entstandenen Infiltraten noch nach Monaten Hühnercholerabakterien, welche für normale Tiere ihre volle Virulenz besitzen und nur für das Immuntier unschädlich sind, ein Umstand, der sich mit einer bakteriziden Säftewirkung des Immuntieres nicht erklären läßt. Daß das Hühnercholeraimmunserum im Tierkörper nicht durch Bakterizidie wirken kann, wurde durch die Versuche von Weil und Braun[1]) erwiesen, welche zeigen konnten, daß das Hühnercholeraimmunserum, welches manchmal im Reagensglase spezifische bakterizide Eigenschaften aufweist, durch Behandlung mit Bakterien wohl die bakteriziden Immunkörper, nicht aber seinen Schutzwert verliert.

Da also die Bakterien durch die Wirkung des Immunserums nicht direkt abgetötet werden, so liegt stets die Gefahr vor, daß diejenigen Keime, welche im Tierkörper am Leben bleiben, noch nach langer Zeit

---

1) Folia serologica. 1909.

eine Infektion veranlassen können. Und in der Tat kann man die Beobachtung machen, daß bei der übertragenen Immunität manchmal Tiere nach längerer Zeit an akuter Infektion sterben, während allerdings die Mehrzahl der auf dieselbe Weise behandelten Tiere dauernd am Leben bleibt, ein Verhalten, welches auch bei der passiven Immunität gegen Schweinerotlaufbacillen sehr oft beobachtet werden kann.

Ich machte mir es zur Aufgabe, diese interessante Erscheinung einer genaueren Untersuchung zu unterziehen. Für die Erklärung dieser Tatsache kam in Betracht, daß durch die Impfung mit Immunserum und Bakterien ein Teil der Tiere aktive Immunität erlangt, was wir ja von der Simultanimpfung wissen, ein anderer Teil aber wird nicht aktiv immun, und bei diesem kann es vorkommen, daß durch irgendeinen Umstand am Leben gebliebene Bakterien eine nachträgliche Infektion veranlassen können. Um zu untersuchen, ob durch die Serum-Bakterienimpfung aktive Immunität entsteht, haben wir eine Anzahl von Mäusen, an welchen die Schutzprüfung des Serums vorgenommen wurde, nach längerer Zeit ein zweites Mal infiziert.

Tabelle I.

Maus No.	Menge des Immunserums	Infiziert mit $^1/_{10}$ Tr.	Stirbt	Reinfiziert mit $^1/_{10}$ Tropfen nach	Stirbt	Nach	Anmerkung
1	0,3	2. Tag	—	18 Tagen	+	2 Tagen	Hühner-cholera-bacillen im Blute
2	0,3	dgl.	+			17 „	
3	1,0	„	—	36 „	+	6 „	
4	0,5	„	—	36 „	+	3 „	
5	0,1	„	—	36 „	+	24 Std.	
Kontrolle	—				+	24 „	

Aus diesem Versuche geht hervor, daß in der Tat die einmal geimpften Mäuse gegenüber einer zweiten Infektion eine deutliche Resistenz aufweisen. Denn unvorbehandelte oder mit normalem Serum behandelte Kontrolltiere erliegen ausnahmslos der Infektion innerhalb 24 Stunden. Aus diesem Versuche geht aber nicht hervor, ob die hier vorhandene Resistenz auf Kosten einer durch die zur Infektion verwendete Bakterieneinspritzung erlangten aktiven Immunität oder noch auf die Wirkung des Immunserums zurückzuführen ist.

Es war also notwendig, diese Untersuchung systematisch durchzuführen, und zwar in folgender Weise: Wir mußten zunächst darüber Aufschluß erlangen, wie lange das Immunserum (1) schützt, denn nur der Schutz kann auf Rechnung der injizierten Bakterien gesetzt werden, der nach dieser Zeit vorhanden ist.

Aus Tabelle II geht hervor, daß sich der Schutz des Serums auf 2 Wochen erstreckt; diesbezüglich stimmt das Hühnercholeraserum mit den antitoxischen Seris überein. Aus diesem Versuche geht weiter hervor, daß die gleichzeitig mit der Immunseruminjektion infizierten Mäuse nicht dauernd geschützt sind, ein Umstand, der schon mehrfach beobachtet wurde, und der im vollen Widerspruche mit der bakteriolytischen Serumwirkung steht. Denn ein bakteriolytisches Immunserum wirkt am besten, wenn es gleichzeitig mit den Bakterien injiziert wird,

---

1) Das Immunserum stammt von einem Kaninchen, welches sechsmal mit Hühnercholeraaggressin vorbehandelt war.

Tabelle II.

Maus No.	Menge des Immunserums	Infiziert mit $^1/_{50}$ Tropfen nach	Lebt	Stirbt	Nach der Infektion	Anmerkung
1	0,5	gleichzeitig		+	8 Tagen	
2	0,1	„		+	8 „	
Kontrolle	—	„		+	24 Stunden	
3—16		2 Tagen	+			Siehe Tab. III
17	0,1	2 „		+	14 Tagen	Hühnercholerabacillen im Blute
Kontrolle	—			+	24 Stunden	
18	1,0	3 „	+			
19	0,5	3 „	+			
20	0,1	3 „	+			
Kontrolle	—			+	24 „	
21	1,0	5 „	+			
22	0,5	5 „		+	12 Tagen	
23	0,1	5 „	+			
Kontrolle	—			+	24 Stunden	
24	1,0	7 „	+			
25	0,5	7 „	+			
26	0,1	7 „		+	8 Tagen	
Kontrolle	—			+	24 Stunden	
27	0,5	15 „	+			
28	0,1	15 „	+			
Kontrolle	—			+	24 „	
29	0,5	21 „		+	24 „	
30	0,1	21 „		+	24 „	
Kontrolle	—			+	24 „	
31	1,0	25 „		+	24 „	
32	1,0	30 „		+	24 „	
Kontrolle	—			+	24 „	

ein Umstand, der seine Erklärung darin findet, daß der bakteriolytische Immunkörper mit den Bakterien eine Verbindung eingeht und ihre Abtötung bedingt. So spricht auch dieses differente Verhalten des Hühnercholeraimmunserums dafür, daß es nicht durch Immunkörper wirken könne, welche die Bakterien beeinflussen. Auch zeigt dieser Versuch, daß von den 15 am zweiten Tage infizierten Mäusen eine (No. 17) nach 14 Tagen septikämisch stirbt, während andere auf dieselbe Weise behandelte Tiere am Leben bleiben. Wir haben also hier eine Bestätigung

Tabelle III.

Maus No.	Menge des Immunserums	Infiziert mit $^1/_{50}$ Tropfen nach	Reinfiziert mit $^1/_{50}$ Tropfen nach	Stirbt in 24 Std.	Anmerkung
3	1,0	2 Tagen	23 Tagen	+	Hühnercholerabacillen im Blute
8	0,5	dgl.	23 „	+	
13	0,1	„	23 „	+	
Kontrolle	—			+	
4	1,0	„	25 „	+	
9	0,5	„	25 „	+	
14	0,1	„	25 „	+	
Kontrolle	—			+	
5	1,0	„	28 „	+	
6	1,0	„	28 „	+	
Kontrolle	—			+	
7	1,0	„	30 „	+	
10	0,5	„	30 „	+	
11	0,5	„	30 „	+	
12	0,5	„	30 „	+	
Kontrolle	—			+	

der Tatsache, von der wir zu Beginn dieser Ausführung gesprochen haben.

Tabelle III zeigt, daß diejenigen Tiere, welche nach der Infektion am zweiten Tage am Leben geblieben sind, ausnahmslos einer erneuten Infektion, welche zu einer Zeit vorgenommen wurde, als der durch das Immunserum übertragene Schutz nicht mehr vorhanden war, erlagen. Man kann daraus mit aller Sicherheit schließen, daß die zur Infektion verwendeten Bakterien eine aktive Immunität nicht erzeugt haben.

Tabelle IV.

Maus No.	Menge des Immunserums	Infiziert mit $^{1}/_{50}$ Tropfen nach	Reinfiziert mit $^{1}/_{50}$ Tropfen nach	Lebt	Stirbt in 24 Std.	Anmerkung
18	1,0	3 Tagen	27 Tagen		+	
19	0,5	3 „	27 „		+	
20	0,1	3 „	27 „		+	
Kontrolle	—				+	
23	0,1	5 „	28 „		+	
24	1,0	7 „	28 „		+	
25	0,5	7 „	28 „		+	
Kontrolle	—				+	
27	0,5	15 „	30 „		+	
28	0,1	15 „	30 u. 45 Tagen	+		
2 Kontr.	—				++	

Wie aus Tabelle IV hervorgeht, ist eine aktive Immunität auch bei den Tieren, welche in größeren Zwischenräumen nach der Immunserumeinspritzung infiziert wurden, nicht entstanden. Nur eine Maus (No. 28) macht hiervon eine interessante Ausnahme. Dieses mit 0,1 ccm Immunserum immunisierte Tier, welches 14 Tage nachher infiziert wurde, reagierte mit einem Infiltrate am Infektionsorte, welches vereiterte und nach außen durchgebrochen war. Dieses Tier erwies sich einer erneuten Infektion gegenüber als aktiv immun, und eine Erklärung dafür läßt sich unschwer geben, und zwar auf folgende Weise: Der Schutz des Immunserums war nach 14 Tagen nicht mehr so vollkommen, daß es eine Vermehrung der Bakterien an der Infektionsstelle vollkommen zu unterdrücken imstande war. Dieselbe blieb aber auf die Infektionsstelle beschränkt und hat dadurch nicht den Tod des Tieres zur Folge gehabt. Die mit der lokalen Vermehrung im Zusammenhang stehende Ausbildung von Aggressin hat diesem Tiere eine aktive Immunität verliehen. Es hat sich also bei diesem Tiere um eine Immunisierung mit abgeschwächten, lokal sich vermehrenden Erregern (um eine Pasteurisierung) gehandelt. Nur ist in diesem Falle die Abschwächung nicht durch künstliche Eingriffe, wie es bei der Herstellung der Vaccine geschieht, hervorgerufen, sondern dadurch, daß sich in dem durch das Immunserum resistent gemachten Tiere die Bakterien so verhalten, wie in ihrer Virulenz abgeschwächte Erreger. Das Ausbleiben der aktiven Immunität bei sämtlichen übrigen Tieren hat seinen Grund darin, daß es durch die starke Wirkung des Immunserums den Bakterien nicht ermöglicht war, auch nur lokal sich zu vermehren. Dieselben verhalten sich in einem erfolgreich immunisierten Organismus wie Saprophyten, denen eine Vermehrungsmöglichkeit nicht zukommt. Dadurch, daß sich dieselben wie eine blande Substanz verhalten, welche auf den Organismus keinen Reiz ausübt, antwortet derselbe auch nicht mit der Ausbildung von Reaktionsprodukten. Dies geschieht erst dann, wenn die sich vermehrenden Bakterien eine Reaktion auslösen.

Durch unsere Feststellungen findet also das eingangs erwähnte Phänomen der nachträglichen Infektion eine Erklärung. Wenn bei Tieren zu der Zeit, wo der Schutz des Immunserums nicht mehr vorhanden ist (in unserem Falle zwischen 15 Tagen bis 3 Wochen), ein Teil der eingespritzten Bakterien noch am Leben ist, so kann es, durch irgendeinen Umstand veranlaßt, vorkommen, daß diese eine Infektion erzielen können. Und in der Tat tritt auch die nachträgliche Infektion in der oben genannten Zeit auf.

Für die praktische Anwendung der Simultanimpfung muß man aus unseren Versuchen den Schluß ziehen, daß dieselbe nur dann zu einem Ziele führen kann, wenn die zur Infektion verwendeten Bakterien durch ihre Vermehrung einen Reiz auf den Organismus ausüben. Es liegt jedoch auf der Hand, daß hierdurch eine doppelte Gefahr gegeben ist. Einmal können die sich vermehrenden Bakterien Infektion veranlassen, das andere Mal können lebende infektionstüchtige Keime für normale Tiere gefahrvoll werden. Beide Umstände lassen sich mit Sicherheit durch die Aggressinimmunisierung vermeiden.

Nachdruck verboten.

Verhalten des Leprabacillus einigen Fermenten gegenüber.

[R. Clinica dermosifilopatica di Roma.]

Von Prof. **R. Campana** in Gemeinschaft mit stud. **Carbone** ausgeführte Untersuchung.

Zur Vervollständigung einer Untersuchung über das Verhalten der Lepragewebe und des Leprabacillus den peptonisierenden Fermenten und dem Pankreasferment gegenüber wurde geeignetes Material von einem Leprösen zum Digerieren in eine Mercksche Pepsinlösung (1 °/₀₀) und in eine Mercksche Pankreatinlösung (1 °/₀₀) gelegt und im Brütschrank bei einer Temperatur von 37,5° gehalten, aus welchem wir es nach 12—16—24 Stunden zur Untersuchung, die wir vorhatten, herausnahmen. Alle Vorsichtsmaßregeln wurden angewendet, um das Auftreten von Fäulniserscheinungen zu verhindern.

Man nimmt Deckgläschen und breitet auf ihnen Material aus, das man aus leprösen Hautstückchen, die den Digestionsprozeß durchgemacht haben, auspreßt; man läßt sie trocknen, legt sie dann zur Fixierung auf 20 Minuten in absoluten Alkohol und besorgt die Färbung nach der für den Leprabacillus üblichen Methode, d. h. man läßt sie 12 Minuten lang in Ziehlscher Flüssigkeit (im Thermostaten bei 60—70°) liegen und spült sie dann mit 1-proz. Salpetersäure einige Sekunden lang ab; weitere Spülung mit absolutem Alkohol, Färbung der ungefärbt gebliebenen Teile mit Methylenblau, Trocknung und Montierung der Präparate.

Beobachtet man Präparate von mit Pepsin behandelten Lepraknoten unter dem Mikroskop, so konstatiert man, daß die Leukocytoidzellen und Detrite zum großen Teil verschwunden und verdaut sind, und man sieht nur noch Trümmer von ihnen; nur kollagene Substanzen erscheinen noch als Faserreste, sie werden bekanntlich nicht verdaut. Die Bacillen haben Abänderungen erfahren: Einige sind zusammengeballt, aber keiner von ihnen hat seine ganze Länge bewahrt; viele sind kürzer, wie zerstückelt, und im allgemeinen sind sie spärlich, was darauf hindeutet, daß sie zum Teil ebenfalls von dem Pepsin in Zerfall gebracht, wenn nicht verdaut worden sind.

In den Präparaten von mit Pankreatin behandelten Lepraknoten sieht man die Reste von Eiweißstoffen und konservierte tierische morphologische Elemente (Blut, Blutdetrite usw.), stark zerfallene und zum großen Teil in ganz kleine granulöse Reste verwandelte, aber nicht zu Reihen angeordnete Bacillen. Die Erscheinung tritt jedoch nicht auf, wenn man lepröse Hautstücke verwendet, die vorher in absolutem Alkohol gehalten worden sind.

Unser Hauptzweck bei Veröffentlichung dieser ersten Versuche ist, Andere zum Studium der Wirkungen dieser und auch anderer Fermente und von eine ähnliche Wirkungsweise entfaltenden Substanzen anzuregen, damit Mittel zum Vorgehen gegen einen Bacillus gefunden werden, der dem menschlichen Organismus so verderblich ist, und der seine Wirkungen nicht nur im lebenden Zustande entfaltet, sondern auch, wenn durch einfache morphologische Reste repräsentiert, die nur sehr langsam aus dem menschlichen Organismus ausgeschieden werden.

Nachdruck verboten.

Die Komplementbindungsreaktion bei Syphilis, Impfpocken und anderen Infektionskrankheiten.

[Aus der bakteriol. Untersuchungsanstalt des XII. (1. K. S.) A.-K. Dresden
(Vorstand: Oberstabsarzt Dr. Thalmann).]

Von Dr. **Xylander,** Stabsarzt im 1. (Leib-)Gren.-Regt. No. 100.

Seit Einführung der Komplementbindungsreaktion durch Wassermann-Neisser-Bruck in die Serodiagnostik der Lues sind zahlreiche Untersuchungen veröffentlicht, welche für und wider die Brauchbarkeit der Methode sprechen. Ein Teil der Autoren hat auch andere Infektionskrankheiten mit in das Bereich ihrer diesbezüglichen Untersuchungen gezogen, teils mit positivem, teils mit negativem Ausfall. So fanden z. B. Weil und Braun (1) bei 12 Fällen kroupöser Pneumonie 4mal, bei 20 Typhusfällen 3mal, bei 1 Fall Diabetes 1mal, bei 21 Tuberkulosefällen 2mal positiven Ausfall der Reaktion. Halberstädter, Erich Müller und Reiche (2) konnten bei 9 Masern-, 5 Varicellen- und 14 Pertussisfällen nur stets negativen Ausfall der Reaktion erhalten. Ueber den Ausfall der Reaktion bei Scharlach (3) gehen die Meinungen noch sehr auseinander. Ein großer Unterschied zwischen dem Extrakt syphilitischer Lebern und dem normaler Herzen von Meerschweinchen hat sich nicht ergeben (4), beide sind gleich gut verwendbar.

In Kürze soll über unsere Erfahrungen mit der Wassermann-Neisser-Bruckschen Reaktion bei Syphilis, Pocken und einigen anderen Infektionskrankheiten berichtet werden.

Die Untersuchungen wurden nach der von Taege (5) beschriebenen, in der Breslauer Hautklinik geübten Methode vorgenommen.

1) Hämolytisches Serum. Kaninchenserum, gewonnen durch intravenöse Vorbehandlung mit gewaschenen Hammelblutkörperchen. Titer 1 : 5000. In flüssigem Zustand nach Zusatz von Karbolglyzerin aufbewahrt.

2) Antigen. Alkoholischer Extrakt vom normalen Herzen und Pockenlymphe vom Kalb gewonnen.

3) Hammelblutkörperchen 2mal nacheinander mit der doppelten Menge physiologischer Kochsalzlösung gemischt, umgeschüttelt und bis zum völligen Absetzen der Blutkörperchen geschleudert.

4) Antikörper. Nach Abreiben mit Alkohol und Sublimat aus der Armvene der zu untersuchenden Patienten steril entnommen, bei 56° ½ Stunde erhitzt.

5) Komplement vor jeder Untersuchung frisch vom Meerschweinchen entnommen.

Antigen wurde verwendet in einer Verdünnung von 1 : 10.

Antikörper in einer Verdünnung 1 : 4.

Hammelblutkörperchen 5 : 100.

Ambozeptor gewöhnlich in einer Verdünnung 1 : 2500, je nach der Wertigkeit des Komplements verstärkt oder verdünnt.

Komplement in einer Verdünnung 1 : 10.

Geprüft wurden vor Anstellung der Reaktion die Kochsalzlösung auf Hämolyse, Komplement und Ambozeptor und zwar so, daß

1,0	Hammelblut	+ 1,0	Komplement	+ 1,0	Ambozeptor	nach	15	Minuten
1,0	„	+ 1,0	„	+ ½	„	„	30	„
1,0	„	+ 1,0	„	+ ¼	„	„	45	„
1,0	„	+ 1,0	„	+ ⅛	„	„	2	Stunden

gelöst waren.

Antigen. Es mußten 2 ccm Antigen + 1,0 Komplement + 1,0 Ambozeptor + 1,0 Hammelblut nach 1 Stunde gelöst sein.

Der Antikörper mußte ebenfalls in einer Menge von 2 ccm + dem System nach 1 Stunde vollkommene Hämolyse ergeben. Schließlich wurde noch das Verhalten des Systems zu einem vollkommen einwandsfreien Syphilitikerserum und einem sicheren Normalserum geprüft.

Pockenantigen wurde in einer Verdünnung von 1 : 40 angewendet.

Der Ausfall der Reaktion wurde wie folgt verzeichnet:

Vollkommene Lösung = 0
Kleine Kuppe = ±
Große Kuppe = +
Spur von Lösung = ++
Komplette Hemmung = +++

Um auch einen Einblick in die hemmende Kraft des zu untersuchenden Patientenserums zu gewinnen, wurde die Einwirkung von 0,5 ccm Antikörper und Antigen bei jeder Untersuchung auf das hämolytische System festgestellt. Es sei gleich an dieser Stelle vorausgeschickt, daß nie ein Unterschied zwischen den einzelnen Dosen festgestellt werden konnte. Manchmal war es notwendig, eine größere Verdünnung des Antikörpers wie 1 : 10 herzustellen, da mancher Antikörper in dieser Verdünnung an und für sich schon geringe Hemmung zeigt.

Bei den 49 (inkl. Rezidiven) untersuchten Seris von Patienten mit sicheren Anzeichen (teils klinischen, teils mikroskopischen) für eine Erkrankung an Lues ließ sich in 39 Fällen ein positiver Ausfall (+++ und ++) der Reaktion erzielen, in 4 Fällen war der Ausfall zweifelhaft (+ und ±) und in 6 Fällen überhaupt negativ.

No.	Name, Geschlecht, Tag der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Tag der Infektion	Auftreten der ersten Erscheinungen	Tag der Blutentnahme	Zeitverlauf zwischen Infektion und Blutentnahme	Ausfall der Reaktion
1	S., männlich, 9. 10. 08	Am Bändchen linsengroßes, flaches Geschwür mit speckigem Grund. Am Rumpf u. Extremitäten Roseola syphilitica. Allgemeine Drüsenschwellung. In den Papeln Spirochäten	Mitte Aug. 08	Anfang Sept. 08	9. 10. 08	Etwa 8—9 Wochen	++ Bei der Entlassung ++
1a	Rezidiv, 2. 2. 09	Am Bändchen altes Geschwür. An Mund- u. Rachenschleimhaut Papeln. An den Tonsillen spezifische Geschwüre. Allgemeine Drüsenschwellung	Mitte Aug. 08	Anfang Sept. 08	11. 2. 09	Etwa 5½ Mon.	+++
2	M., männlich, 9. 10. 08	Am inneren Vorhautblatt zwei linsengroße Geschwüre mit speckigem Grund. Leistendrüsen mäßig vergrößert, indolent. Im Reizserum Spirochäten	Mitte Sept. 08	Anfang Okt. 08	9. 10. 08	Etwa 3 Wochen	0
3	K., männlich, 9. 10. 08	An der Vorhaut ein etwa linsengroßer Defekt, strahlig vernarbt. Allgemeine indolente Drüsenschwellung. An Rumpf u. Extremitäten mittelgroß - papulöses Syphilid. Spirochäten	Anfang Juli 08	Anfang Aug. 08	9. 10. 08	Etwa 14 Woch.	++
4	K., männlich, 9. 10. 08	An der Eichel altes vernarbtes syphilitisches Geschwür. Am Rumpf u. Extremitäten großpapulöses Syphilid. Allgemeine indolente Drüsenschwellung. Nässende Papeln am After	Etwa Ende März 08	Mitte April 08	9. 10. 08	Etwa 6½ Mon.	+++
5	B., männlich, 9. 10. 08	An der Eichel ein etwa pfennigstückgroßer Defekt mit strahliger Narbe. Großpapulöses Exanthem am ganzen Körper. Nässende Papeln am After. Spirochäten im Reizserum	Etwa Ende Juli 08	Anfang Aug. 08	9. 10. 08	Etwa 8—9 Wochen	+++

No.	Name, Geschlecht, Tag der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Tag der Infektion	Auftreten der ersten Erscheinungen	Tag der Blutentnahme	Zeitverlauf zwischen Infektion und Blutentnahme	Ausfall der Reaktion
6	D., männlich, 8. 10. 08	An d. Vorhaut ein hanfkorngroßes Geschwür mit speckigem Geschwürsgrund. Ueber den ganzen Körper dichtstehende Roseola syphilitica. Allgemeine indolente Drüsenschwellung. Im Reizserum zahlreiche Spirochäten. An den Tonsillen spezifische Geschwüre	Angeblich Ende Sept. infiziert?	Seit etwa 14 Tagen, also auch Ende Sept.?	9. 10. 08	Angeblich etwa 2 Wochen	++
7	T., männlich, 3. 10. 08	Am Rücken des Gliedes u. am äußeren Vorhautblatt abgeheiltes Geschwür. Ueber den ganzen Körper mittelgroßes papulöses Syphilid. Beginnende Papeln a. d. Tonsillen. Allgemeine indolente Drüsenschwellung	Angeblich Anfang Sept. 08?	Angeblich Mitte Sept.?	9. 10. 08	4—5 Wochen?	++ Zweite Blutentnahme am 11. 2. 09 = 0
8	G., männlich, 8. 10. 08	An dem inneren Vorhautblatt verheiltes Geschwür, strahlige weißl. Narbe. Ueber den ganzen Körper multiformes papulöses Syphilid v. rotbrauner Farbe. An d. Tonsillen teils frische, teils zerfallene Papeln. Allgemeine indolente Drüsenschwellung	März 07	April 07	9. 10. 08	$1^{1}/_{2}$ Jahre	+++
9	R., männlich, 2. 10. 08	Makulopapulöses Syphilid am ganzen Körper. Nässende Papeln am Scrotum, After u. Vorhaut. Schwellung u. Rötung d. Rachenmandeln. Allgemeine indolente Drüsenschwellung (1907 und 1908 je 4-wöchentliche Schmierkur)	März 07?	April 07	9. 10. 08	$1^{1}/_{2}$ Jahre	+++
10	L., männlich, 13. 10. 08	Noch wenig sezernierendes Geschwür am inneren Vorhautblatt. Im Munde Schleimhautpapeln. Allgemeine indolente Drüsenschwellung. Haarausfall	Aug. 07	Aug. 07	25. 10. 08	ca. 13 Mon.	+++

No.	Name, Geschlecht, Tag der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Tag der Infektion	Auftreten der ersten Erscheinungen	Tag der Blutentnahme	Zeitverlauf zwischen Infektion und Blutentnahme	Ausfall der Reaktion
11	G., männlich, 21. 10. 08	Indolente allgemeine Drüsenschwellung. Stirnkopfschmerzen, Schnupfen. Tonsillenreste zerklüftet, weißlich. Am Körper vereinzelte weißl. strahlige Narben	Negiert	Seit 3 Jahren (1905) geschwollen. Leistendrüsen, seit 1 Jahr (1907) Haarausfall, öfter Mandelentzündung	25. 10. 08	Etwa 3 Jahre	+++
12	G., männlich, 23. 10. 08	Linsengroßes Geschwür am inneren Vorhautblatt. Leistendrüse links geschwollen, indolent. Spirochäten im Reizserum	Ende Sept., Anfang Okt. 08	Anfang Okt., etwa am 14. 10. 08	25. 10. 08	Etwa 3—4 Wochen	± Bei der Entlassung 0
13	St., männlich, 24. 10. 08	Am Rumpf mittelgroßes papulöses Syphilid. An der Eichel am Sulcus coronar. ein pfennigstückgroßes Geschwür mit speckigem Grund. Allgemeine Drüsenschwellung. Im Reizserum der Papeln Spirochäten	Mitte Sept. 08	Anfang Okt. (1.—3.) 09	25. 10. 08	Etwa 5—6 Wochen	+
14	R., männlich, 24. 10. 08	Am Rumpf mittelgroßes papulöses Syphilid. Auf den Tonsillen Papeln. Am Bändchen eine etwa hanfkorngroße indurierte Stelle. Im Reizserum der Papeln Spirochäten	Anfang Aug. 08	Mitte Aug. 08	25. 10. 08	Etwa 12—13 Wochen	+++
14a	Derselbe,	Rezidiv			3. 4. 09		+++
15	H., männlich, 25. 10. 08	Leukoderma, Haarausfall. Mittelgroßes papulöses Syphilid am ganzen Körper. Nässende Papeln am Scrotum u. After. Allgemeine Drüsenschwellung. Im Reizserum Spirochäten	Angeblich Anfang Okt. 08?	Mitte Okt. 08?	25. 10. 09	Angeblich etwa 2—3 Wochen?	+++
16	Pf., männlich, 3. 12. 08	Nässende Papeln an Vorhaut, After, Tonsillen. Laryngitis. Allgemeine Drüsenschwellung. Vox rauca	Anfang Juni 08	Mitte Juni 08	4. 12. 08	Etwa $6\frac{1}{2}$ Mon.	+++

No.	Name, Geschlecht, Tag der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Tag der Infektion	Auftreten der ersten Erscheinungen	Tag der Blutentnahme	Zeitverlauf zwischen Infektion und Blutentnahme	Ausfall der Reaktion
17	K., 19. 11. 08	Am Gliedrücken ein linsengroßes, nicht infiltriertes Geschwür, mit Sekret bedeckt. Allgemeine Drüsenschwellung. Im Reizserum Spirochäten	Infektion negiert	?	4. 12. 08	?	+++ Bei der Entlassung +++
17a	Derselbe,	Rezidiv. Angina specifica. Laryngitis specifica.			3. 4. 09		+++
18	P., 28. 11. 08	Großes u. mittelgroßes papulöses Syphilid am Rumpf. An der Oberlippe, dicht unter der Nasenscheidewand, ein groschengroßes Geschwür mit kondylomartigen Wucherungen. Im Naseneingang einige kleine Schleimhautpapeln. Nässende Papeln am Scrotum, After, Schenkelbeuge. Im Reizserum zahlreiche Spirochäten	Angeblich Anfang Aug. 08	Mitte Aug. 08	4. 12. 08	Etwa $4^{1}/_{2}$ Mon.	+++ Bei der Entlassung +++
19	K., männlich, 5. 1. 09	Am inneren Vorhautblatt in der Nähe der Kranzfurche 3 doppeltlinsengroße Geschwüre. Inguinaldrüsenschwellung. Im Reizserum Spirochäten	21. 12. 08	Anfang Jan. 09	6. 1. 09 II. Blutentnahme 25. 2. 09	Etwa 3 Wochen	0 ±
20	F., männlich, 5. 1. 09	Am inneren Vorhautblatt pfennigstückgroßes Geschwür. Mittelgroßes papulöses Syphilid am Rumpf. Indolente Drüsenschwellung. Im Reizserum aus Papeln Spirochäten	Mitte Nov. 08	Anfang Dez. 08	6. 1. 09 II. Blutentnahme 27. 3. 09	Etwa 8 Wochen	++ ±
21	B., männlich, 2. 1. 09	Am Sulcus coronar. dorsal. mehrere speckig belegte Geschwüre mit infiltriertem Grund. Allgemeine indolente Drüsenschwellung. Am Rumpfe vereinzelt makulöses Syphilid mit derberen Infiltraten	Anfang Nov. 08	Mitte Nov. 08	6. 1. 09	Etwa 10—11 Wochen	++

No.	Name, Geschlecht, Tag der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Tag der Infektion	Auftreten der ersten Erscheinungen	Tag der Blutentnahme	Zeitverlauf zwischen Infektion und Blutentnahme	Ausfall der Reaktion
22	M., 18. 12. 09	Ueber den ganzen Körper pustulöses, teils ulceröses Syphilid. Impetigo syphilit. capitis. Allgemeine indolente Drüsenschwellung	Wahrscheinlich Mitte Sept. 08	Anfang Okt. 08	20. 12. 08 II. Blutentnahme 8. 3. 09	Etwa 14—15 Wochen	+++ Bei der Entlassung +++ +++
22a	Rezidiv	Derselbe Befund					
23	W. T., männlich, 17 Jahre alt	Beiderseits Hornhauttrübung. Peripherie d. Augenhintergrundes übersät mit Pigmentherden. Papillengrenzen verwaschen. Papille selbst gelbweiß. Gefäße fädchenförmig. S.R. Finger in 3 m. S.L. Finger in 1 m. Spezif. Erkrankung d. Ohren, bedeutende Schwerhörigkeit	Infektion vom Vater negiert	Bestehen schon mehrere Jahre	13. 1. 09	Anscheinend mehrere Jahre hereditär?	+++
24	G., männlich, 13. 1. 09	Angina specifica. Haarausfall. Allgemeine Drüsenschwellung. II. Rezidiv	Mitte Sept. 07	Anfang Okt. 07	13. 1. 09 II. Blutentnahme 9. 3. 09	Etwa $1^1/_4$ Jahr	+++ Bei der Entlassung 0
25	W., männlich, 13. 1. 09	Angina specifica. Allgemeine indolente Drüsenschwellung	Anfang April 08	Mitte April 08	13. 1. 09	Etwa $^3/_4$ Jahr	+++
26	P., männlich, 11. 1. 09	Strahlige, weißliche Narbe an der Kranzfurche, Oberschenkel, Rücken. Angina specifica. Allgemeine indolente Drüsenschwellung	Mitte Nov. 07	Ende Nov. 07	13. 1. 09 II. Blutentnahme 9. 3. 09	Etwas über 1 Jahr	+++ 0
27	W. I., 8. 1. 09	An der Kranzfurche dorsal ein pfennigstückgroßes Geschwür. Taubeneigroße indolente Inguinaldrüsen. Im Reizserum Spirochäten	25. 12. 08	Anfang Jan. 09	13. 1. 09 II. Blutentnahme 25. 2. 09	Etwa 3 Wochen	0 +
28	Z., 17. 1. 09	Am After nässende breite Kondylome. Am Rumpf großes papulöser Syphilid. Allgemeine invol. Drüsenschwellung	Mitte März 08	Anfang April 08	17. 1. 09 II. Blutentnahme 27. 3. 09	Etwa 11 Mon.	+++ ±
29	M., 16. 1. 09	Vernarbtes Geschwür am Bändchen. Am Rumpf makulo-papulöses Syphilid. Allgemeine indolente Drüsenschwellung	Anfang Nov. 08	etwa Mitte Nov. 08	17. 1. 09 II. Blutentnahme 27. 3. 09	Etwa 10—11 Wochen	++ ±

No.	Name, Geschlecht, Tag der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Tag der Infektion	Auftreten der ersten Erscheinungen	Tag der Blutentnahme	Zeitverlauf zwischen Infektion und Blutentnahme	Ausfall der Reaktion
30	B., 8. 2. 09	Linsengroßes Geschwür, speckig belegt am äuß. Vorhautblatt. Gaumen u. Rachenschleimhaut gerötet ohne deutliche Papeln. Allgemeine indolente Drüsenschwellung	Anfang Aug. 08	Mitte Aug. 08	11. 2. 09 II. Blutentnahme 13. 3. 09	Etwa 6½ Mon.	+++ ++
31	E., 16. 1. 09	Linsengroßes Geschwür am inneren Vorhautblatt. Linksseitige Leistendrüsenschwellung wenig schmerzhaft. Kein Spirochätenbefund	Ende Dez. 08	Mitte Jan. 09	17. 1. 09	Etwa 2—3 Wochen	0
31a	II. Aufnahme 11. 2. 09	Geschwür am inneren Vorhautblatt verheilt. Am Rumpf mittelgroßes papulöses Syphilid. Jetzt Spirochäten nachweisbar	Ende Dez. 08	Mitte Jan. 09	11. 2. 09	Etwa 7 Wochen	++
32	L., 10. 2. 09	Ulceröses Syphilid am ganzen Körper. Allgemeine Drüsenschwellung	Sommer 1908	?	11. 2. 09	Etwa 7—8 Mon.	+++
33	Br., 18. 2. 09	Stinknase. Großer Defekt im Septum. Geschwüre auf d. Nasenschleimhaut. Allgemeine Drüsenschwellung	Unbekannt, angeblich durch Hufschlag entstand.	?	19. 2. 09	?	+++
34	J., 18. 2. 09	An der Vorhaut kleine bläuliche Narbe. Ueber den ganzen Körper erbsengroßer braunroter Hautausschlag. Leistendrüsenschwellung. Im Reizserum Spirochäten	Ende Dez. 08	Mitte Jan. 09	19. 2. 09	Angeblich 1½ Mon.	++
35	M., männlich, 8. 2. 09	An beiden Seiten der Bändchen flache Geschwüre m. schmutziggrauem Belag. Am Rumpf vereinzeltes kleinpapulöses Syphilid. Vorhaut ödematös. Indolente Drüsenschwellung (Inguinal + Cubital)	Weihnachten 08	Anfang Jan. 09	19. 2. 09 II. Blutentnahme 13. 3. 09	Etwa 8 Wochen	++ ++

No.	Name, Geschlecht, Tag der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Tag der Infektion	Auftreten der ersten Erscheinungen	Tag der Blutentnahme	Zeitverlauf zwischen Infektion und Blutentnahme	Ausfall der Reaktion
36	S., 25. 2. 09	Papulomakulöses Syphilid am ganzen Körper. Impetigo syphilitica capitis. Haarausfall. Schwellung sämtlich. Lymphdrüsen. Altes Geschwür an der Vorhaut	Mitte Nov. 08	Anfang Dez. 08	25. 2. 09	Etwa 14—15 Wochen	+++
37	L., männlich, 11. 3. 09	An der inneren Vorhaut ein erbsengroßes Geschwür mit glatten Rändern, speckigem Grund, Umgebung leicht infiltriert. Indolente Inguinaldrüsenschwellung. Im Reizserum Spirochäten	Mitte Febr. 09	Am 6. 3. 09	13. 3. 09 II. Blutentnahme 3. 4. 09	Etwa 3 Wochen	θ ±
38	K., 12. 3. 09	Am Rumpf papulomakulöser Syphilis. Allgemeine indolente Drüsenschwellung	Weihnachten 08	Anfang Jan. 09	13. 3. 09		++
39	D., 30. 3. 09	Erbsengroßes Geschwür mit speckigem Grund und mäßig infiltrierten Rändern an dem inneren Vorhautblatt. Inguinaldrüsenschwellung. Im Reizserum Spirochäten	Mitte Dez. 08	Anfang Jan. 09 ?	3. 4. 09	?	±
40	Be. M., weiblich, 16 Jahre	Große Lichtscheu, starkes Tränenträufeln. Hornhaut matt, undurchsichtig, starke Ciliarinjektion. An der hinteren Hornhautwand massenhafte Präzipitate. Kammerwasser getrübt, Pupille eng. Iris hyperämisch, verfärbt	Lues wird negiert	?	3. 4. 09	? Lues congenita	++
41	W., männlich, 20. 4. 09	Hornhaut im äußeren oberen Quadranten uneben, undurchsichtig, kleine und größere, graugelbe, den äußeren Schichten angehörende Trübungen, Gefäßneubildungen im Bereich dieser Trübungen. Inguinal-, Cubital- und Nackendrüsen geschwollen. An den Tonsillen Defekt mit weißlichem, speckigem Untergrund. Am Glied nichts.	Infektion negiert	?	1. 5. 09	?	+++

No.	Name, Geschlecht, Tag der Aufnahme	Befund bei der Aufnahme	Tag der Infektion	Auftreten der ersten Erscheinungen	Tag der Blutentnahme	Zeitverlauf zwischen Infektion und Blutentnahme	Ausfall der Reaktion
42	S., männlich, 10. 4. 09	An dem inneren Vorhautblatt ein erbsengroßes Geschwür mit indurierten Rändern, mißfarbenem Grund. Indolente Drüsenschwellung in beiden Inguinalgegenden Im Reizserum zahlreiche Spirochäten	Anfang April 09 ?	Mitte April 09	1. 5. 09 II. Blutentnahme 28. 5. 09	Angeblich 4 Wochen	θ θ
43	B., männlich, 23. 5. 09	Am inneren Vorhautblatt, nahe der Kranzfurche, eine kleine, erbsengroße, bläulich verfärbte Narbe, deren Umgebung sich in Kirschgröße infiltriert und gerötetpräsentiert. Die Leistendrüsen, Cubitaldrüsen sind geschwollen, unempfindlich. Am Rumpf, besonders Brust, mittelgroßes, papulöses Syphilid	Mitte März 09	Anfang April 09		Etwa 8—10 Wochen	+++
44	Th., männlich, 23. 5. 09	An der Eichel, zwischen Garnröhrenmündung und Bändchen, ein schmales, längliches, oberflächliches Geschwür mit unregelmäßigen, wenig erhabenen, mäßig indurierten Rändern mit mißfarbigem Geschwürsgrund und wenig entzündl. Umgebung. Links haselnußgroße, nicht druckempfindliche Lymphdrüsen. Im Ausstrich Spirochäten	Anfang April 09	Letztes Drittel April 09	28. 5. 09	Etwa 6—7 Wochen	±

Die Reaktion ergab am häufigsten positive Ausschläge, wenn die Erscheinungen von allgemeiner Syphilis festgestellt werden konnten. Zweifelhaft war der Ausfall in den Fällen, wo ein Geschwür und Schwellung der Leistendrüsen vorhanden, es jedoch wegen der Kürze der Zeitdauer zwischen Infektion und Blutentnahme zu allgemeinen Erscheinungen noch nicht gekommen war. Negativer Ausfall wurde da beobachtet, wo zwischen Infektion und Anstellung der Reaktion nur wenige Wochen vergangen und noch keine Gelegenheit gegeben war, den Körper mit dem Infektionsstoff oder mit den Stoffwechselprodukten desselben zu durchseuchen.

Positive Reaktion war manchmal nur vor, nicht mehr nach der Behandlung zu beobachten, in einigen Fällen war sie trotz ausgiebiger

Quecksilberkur nach Beendigung derselben in unverminderter Stärke positiv geblieben, in anderen Fällen dagegen war ein Abklingen nach der negativen Seite hin wahrzunehmen, schließlich waren auch solche Fälle zu verzeichnen, wo die Reaktion nach Beendigung der Kur an Deutlichkeit eher zugenommen hatte. Inwieweit geringe Zu- oder Abnahme in der Deutlichkeit der Komplementfixation nach Beendigung der Kur auf die zur Anstellung der Reaktion notwendigen Stoffe (Antigen) zurückzuführen sind, lassen wir dahingestellt, und glauben auch, daß diesen Ausschlägen bei der Beurteilung für eine Heilung bezw. für die weitere Prognose der Lues kein allzugroßer Wert beizumessen ist. Wesentlich wichtiger erscheinen in prognostischer Beziehung diejenigen Fälle zu sein, bei welchen nach beendeter Kur der Ausschlag der Reaktion in demselben Maße wie zu Beginn vorhanden ist. — Es sind dies eigentümlicherweise gerade die Fälle, wo die Ablenkung komplett oder fast komplett war. — Bei sämtlichen zuletzt genannten Fällen ist es bis jetzt nach kürzerer oder längerer Zeit bald wieder zu einem Rezidiv gekommen, während bei den anderen Fällen, wo ebenfalls ein starker Ausfall der Reaktion zu Beginn, jedoch geringer oder gar keiner nach Beendigung der Kur festzustellen war, Rezidive bis jetzt nicht aufgetreten sind. Wenn es uns auch fernliegt, irgendwelche weiteren Schlüsse für die Prognose aus diesen Beobachtungen zu ziehen, denn dazu ist das verarbeitete Material bis jetzt nicht groß genug, so glauben wir doch annehmen zu dürfen, daß man in solchen Fällen sehr bald mit einem Rezidiv rechnen kann bezw. muß.

Von den 49 vorgenannten Fällen haben 6 negiert, jemals Lues gehabt bezw. sich infiziert zu haben oder antiluetisch behandelt zu sein. In allen 6 Fällen ergab jedoch die Reaktion einen stark positiven Ausfall. Eine hierauf eingeleitete antiluetische Behandlung hat in allen Fällen eine recht erhebliche Besserung gebracht, zum Teil, soweit bis jetzt klinisch nachweisbar, Heilung ergeben.

	Anzahl der Fälle	Davon ergaben	
		Hämolyse	Hemmung
I. Kontrollfälle (Lues ausgeschlossen)	50	47	3 ±
II. Luesverdächtige: Fälle, wo Geschwüre sowie (angeblich) indolente Bubonen vorhanden, Ducreysche Bacillen oder Spirochäten jedoch nicht nachgewiesen werden konnten und wo auch nach Behandlung der Geschwüre mit Jodoformeinlagen dieselben abheilten und spätere Anzeichen für Lues bis jetzt nicht aufgetreten bezw. die Patienten nicht wieder in Behandlung gekommen sind	32	30	2 ±
III. Sera von Patienten anderer Erkrankungen			
a) Allgemeine Drüsenschwellung	10	7	3 ±
b) Scharlach	3	3	—
c) Typhus, Paratyphus	4	4	—
d) Punktionsflüssigkeiten (von sterilen postpneumonischen und tuberkulösen Exsudaten)	15	16	—
e) Malaria	1	1	—
f) Meningitis α) Blut	1	1	—
β) Spinalflüssigkeit	1	1	—
g) Allgemeine Sepsis	6	6	—
h) Psoriasis, Impetigo contagiosa, Erythema bullosum multiforme	20	20	—

Bei den 50 untersuchten, als Normalsera zu bezeichnenden Seris, welche von Leuten stammten, bei denen mit Sicherheit Lues ausgeschlossen werden konnte, fanden sich 3, welche eine geringe Hemmung (±) zeigten. Diese Beobachtung stimmt mit der anderer Untersucher überein, welche fanden, daß ein gewisser Prozentsatz von Normalseren in der üblichen Verdünnung (1 : 10) an und für sich ablenken.

Von den 32 untersuchten, auf Lues verdächtigen Fällen lenkten zwei Sera nur wenig (±) ab, während die anderen 28 vollkommene Hämolyse ergaben. Von den übrigen 61 untersuchten Seren bezw. Punktionsflüssigkeiten, die von den verschiedensten Kranken herrührten, fanden sich nur bei 10 Fällen von allgemeiner Drüsenschwellung ohne klinischen Nachweis einer spezifischen Erkrankung 3 Sera, welche in geringem Grade ablenkten.

Wenn auch bei diesen letzteren Untersuchungen das verarbeitete Material der einzelnen mit in den Bereich der Wassermannschen Reaktion einbezogenen Krankheiten noch verhältnismäßig gering ist, um weitere Schlüsse auf Wechselbeziehungen zwischen Lues und diesen Erkrankungen zu ziehen, so läßt sich doch zweifellos feststellen, daß in bezug auf die Schwere der Erkrankung in den einzelnen Fällen von Lues, Scharlach usw. in einem weitaus größeren Prozentsatz bei Lues ein positiver Ausfall der Reaktion zu verzeichnen war.

Weiterhin wurden noch eine Anzahl Sera von Leuten untersucht, welche einer künstlichen Vaccination unterzogen waren. Die einzelnen Sera wurden vor und nach der Impfung untersucht. Als Antigen diente Herzextrakt und Kälberlymphe. Das als Antikörper dienende Serum wurde 10, 12 und 16 Tage nach erfolgter Impfung entnommen.

No.	Name, letzte Impfung	Tag der Impfung	Erfolg	Blutentnahme ? Tage nach der Impfung	Ausfall der Reaktion vor der Impfung mit		Ausfall der Reaktion nach der Impfung mit	
					Herzextrakt	Lymphe	Herzextrakt	Lymphe
1	E. 1900	14. 10. 08	5 Pusteln	10 Tage	0	0	0	±
2	B. 1900	14. 10. 08	5 „	10 „	0	0	0	±
3	U. 1901	14. 10. 08	4 „	10 „	0	0	0	±
4	M. 1900	14· 10. 08	5 „	10 „	0	0	0	±
5	S. 1902	14. 10. 08	6 „	10 „	0	±	0	±
6	K. 1900	14. 10. 08	5 „	12 „	0	0	0	±
7	H. 1901	14. 10. 08	6 „	12 „	0	0	0	±
8	P. 1900	14. 10. 08	2 „	12 „	0	0	0	0
9	H. 1901	14. 10. 08	3 „	12 „	0	0	0	0
10	H. I 1899	14. 10. 08	5 „	12 „	0	0	0	±
11	Hb. 1901	14. 10. 08	4 „	12 „	0	0	0	0
12	K. 1902	14. 10. 08	5 „	16 „	±	±	±	±
13	T. 1901	14. 10. 08	5 „	16 „	0	0	0	±
14	W. 1900	14. 10. 08	5 „	16 „	0	0	0	±
15	Bi. 1902	14. 10. 08	4 „	16 „	0	0	0	0
16	S. 1901	15. 4. 09	4 „	10 „	±	±	±	±
17	So. 1902	4. 09	4 „	10 „	0	0	0	0
18	Ba. 1903	4. 09	4 „	10 „	0	0	0	0
19	St. 1900	4. 09	5 „	10 „	±	±	±	±
20	Wa. 1901	4. 09	3 „	10 „	0	0	0	0
21	Li. 1902	4. 09	5 „	10 „	0	0	0	0
22	Go. 1900	4. 09	4 „	12 „	0	0	0	0
23	R. 1901	4. 09	5 „	12 „	0	0	0	0
24	Sc. 1902	4. 09	3 „	12 „	±	±	±	±
25	M. 1902	4. 09	2 „	12 „	±	±	±	±
26	Ra. 1899	4. 09	5 „	12 „	0	0	0	0
27	Lo. 1900	4. 09	4 „	16 „	±	±	±	±
28	Ri. 1901	4. 09	5 „	16 „	0	0	0	0
29	L. 1902	4. 09	4 „	16 „	0	0	0	0
30	Gr. 1901	4. 09	4 „	16 „	±	±	±	±
31	R. 1901	4. 09	4 „	16 „	0	0	0	±

Von den 31 untersuchten Seren bei Impfpocken ergaben vor der Impfung 8 einen schwachen, die übrigen 23 gar keinen Ausschlag mit Pockenantigen. Nach erfolgter Impfung ließen mit demselben Antigen 18 von diesen Seren eine geringe Ablenkung (kleine Kuppe) erkennen, bei den 8 Seren, welche vor der Impfung an und für sich schon ablenkten, war dieser Ausschlag nicht deutlicher geworden. Es war einerlei, ob die Reaktion 10, 12 oder 16 Tage nach erfolgter Impfung angestellt wurde.

Mit Luesantigen konnte sowohl vor wie nach der Impfung in 7 Fällen eine geringe (±) Ablenkung festgestellt werden. Mit Ausnahme von einem Fall war diese geringe Hemmung bei allen 4 Versuchsreihen gleichmäßig vorhanden, so daß ihr ein spezifischer Charakter wohl nicht zugesprochen werden kann.

Die gewonnenen Versuchsergebnisse mit der Komplementfixationsmethode bei Pocken und Pockenantigen decken sich im großen und ganzen mit den von Bermbach (6) erhobenen Befunden, welcher bei seinen Untersuchungen von 18 Fällen nur 5mal eine geringe Ablenkung fand, d. h. 5mal eine größere Verdünnung des Serums wie 1:10 herstellen mußte, um komplette Hämolyse zu erhalten.

Sugai (7) hingegen erhielt bei seinen Versuchen erheblich günstigere Resultate. Er konnte bei 6 Fällen von natürlich überstandener Pockenerkrankung 6mal und bei 5 Fällen von Impfpocken 2mal eine komplette Komplementfixation konstatieren. Der Grund für diese verschiedenen Untersuchungsresultate ist wohl darin zu suchen, daß bei den natürlich überstandenen Pocken die Krankheit über den ganzen Körper verbreitet war und das Serum dieser Patienten dementsprechend einen hohen Gehalt an Antikörpern besaß, während bei den Impfpocken die Erkrankung doch meist auf einen kleinen Bezirk lokalisiert bleibt, dieselbe meist nicht sehr heftig auftritt und im Körper dann nur in geringer Menge Ambozeptoren gebildet werden. Gegen die Annahme Sugais, daß erst 10 Jahre nach der Schutzimpfung der Pockenantikörper aus dem Serum des Individuums schwindet, scheinen Bermbachs und unsere Untersuchungen zu sprechen, indem wir 7 Jahre nach erfolgter Impfung in den meisten Fällen keine Antikörper vermittels der Komplementbindungsmethode nachweisen konnten, und Bermbach schon nach einem halben Jahre nur einen geringen Ausschlag der Reaktion erzielte. Eine Beziehung zwischen der Anzahl der Impfungen und der seit der letzten Impfung verstrichenen Zeit konnten weder Bermbach noch wir feststellen.

Eine Wechselbeziehung zwischen Lues und Pocken ergaben die Untersuchungen nicht.

Was nun das Antigen anlangt, so ist es von den verschiedensten Seiten als ein großer Nachteil empfunden, daß die Herstellung und Gewinnung stets gleichmäßig wirkender Organextrakte mit großen Schwierigkeiten verbunden ist. Es sind infolgedessen zahlreiche Versuche angestellt worden, ein gleichmäßig wirkendes, brauchbares und vor allen Dingen haltbares Antigen herzustellen; teils handelte es sich um alkoholische Organextrakte, teils um künstliche. Neuerdings hat nun Schürmann (8) einen künstlichen Extrakt hergestellt, welcher nach seinen Untersuchungen ebenso brauchbar, dabei haltbarer als Leberextrakt sein soll.

Mit diesem Extrakt haben wir nun bei einem Teil unserer Untersuchungen Vergleiche mit einem Herzextrakt angestellt und gefunden, daß dieser Extrakt in der Tat mit Luetikerserum einen ebenso starken Ausschlag gibt wie der Herzextrakt.

Es scheint demnach doch immer mehr die Annahme zur Tatsache zu werden, daß es sich bei der Lues nicht um Bildung von Antikörpern, sondern um Substanzen handelt, die physiologischerweise im Organismus vorhanden sind und erst durch die Spirochäten oder deren Zerfallsprodukte eine pathologische Vermehrung erfahren.

Eine Zusammenfassung der Resultate unserer Untersuchungen ergibt folgendes:

Die Wassermannsche Reaktion ergibt nicht in jedem Fall von Lues eine positive Reaktion. In den ersten Wochen nach der Infektion tritt sie, trotzdem deutliche Anzeichen (mikroskopisch Spirochäten) für Lues vorhanden, meist nicht auf, erst wenn Erscheinungen allgemeiner Syphilis aufgetreten sind (8—10 Wochen nach erfolgter Infektion), ist auf einen positiven Ausfall zu rechnen.

Positive Reaktion war in einigen Fällen vor, in anderen vor und nach der Behandlung zu beobachten; in den Fällen, wo die Reaktion nach abgeschlossener Behandlung noch in derselben Stärke vorhanden ist, treten nach kürzerer oder längerer Zeit bestimmt Rezidive auf.

Die Reaktion war negativ bei allgemeiner Drüsenschwellung, einigen Infektionskrankheiten, Fällen von allgemeiner Sepsis, einigen Hautkrankheiten und bei Pocken.

In einigen Fällen ergaben nichtsyphilitische Sera einen geringen Ausschlag.

Die Wassermannsche Reaktion ergibt dieselben Ausschläge mit alkoholischen Organextrakten wie mit dem künstlichen Extrakt von Schürmann.

Negativer Ausfall besagt nicht, daß Lues nicht vorhanden.

Positiver Ausfall, d. h. komplette Ablenkung, läßt mit Bestimmtheit Lues vermuten.

Serum von Leuten, welche an Impfpocken erkrankt sind, gibt mit Pockenantigen in der gebräuchlichen Verdünnung 1:10 geringen oder gar keinen Ausschlag, in jedem Falle keine Ablenkung mit Luesantigen.

7 Jahre nach erfolgter Schutzimpfung sind Pockenantikörper nicht mehr nachweisbar.

Die Wassermannsche Reaktion ist demnach bis jetzt als diagnostisches Hilfsmittel, falls sie positiven Ausschlag ergibt, sehr gut brauchbar.

Literatur.

1) Weil und Braun, Ueber positive Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion bei nichtluetischen Erkrankungen. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 26.)
2) Halberstädter, Erich, Müller und Reiche, Ueber Komplementbindung bei Syphilis hereditaria, Scharlach und anderen Infektionskrankheiten. (Berliner klin. Wochenschr. 1908. No. 43.)
3) Jochmann und Töpfer, a) Zur Frage der Spezifität der Komplementbindungsmethode bei Syphilis. (Münch. med. Wochenschr. 1908. p. 1690.)
b) Much, Hans, Eine Studie über die sogenannte Komplementbindungsreaktion mit besonderer Berücksichtigung der Lues. (Med. Klinik. 1908. No. 28 u. 29.)

   - c) Much und Eichelberg, Wassermannsche Reaktion bei nichtsyphilitischen Erkrankungen. (Med. Klinik. 1908. No. 18.)
   - d) Meier, Georg, Scharlach und Seradiagnostik auf Syphilis. (Med. Klinik. 1908. No. 36.)
   - e) Höhne, Ueber das Verhalten des Serums von Scharlachkranken bei der Wassermannschen Reaktion bei Syphilis. (Berl. klin. Wochenschr. 1908. No. 38.)
   - f) Zeipler, Die Wassermannsche Reaktion bei Scharlach. (Berl. klin. Wochenschrift. 1908. No. 42.)
   - g) Schleißner, Zur Frage der Komplementbindung bei Scharlach. (Wien. klin. Wochenschr. 1908. No. 40.)
   - h) Holzmann, Scharlach und Wassermannsche Reaktion. (Münchener mediz. Wochenschr. 1909.)

4) Schatiloff und Isabolinsky, Untersuchungen über Wassermann-Neisser-Brucksche Reaktion bei Syphilis. (Zeitschr. f. Immunitätsforschung. Bd. 1. 1908.)

5) Taege, Die Technik der Wassermann-Neisser-Brucksche Seradiagnostik der Syphilis. (Münch. med. Wochenschr. 1908.)

6) Bermbach, Untersuchungen über den Impfschutz mittels der Bordelschen Reaktion. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. p. 618.)

7) Sugai, Ueber den Komplementbindungsversuch bei Variola vera. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 44. p. 652.)

8) Schürmann, Med. Klinik. 1909.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Ambrož, Adolf, Entwickelungszyklus des Bacillus nitri sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien, p. 193.

Bab, Hans, Die luetische Infektion in der Schwangerschaft und ihre Bedeutung für das Vererbungsproblem der Syphilis. Nebst Bemerkungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion, p. 250.

Bail, Oskar, Versuche über Infektionserleichterung durch Diphtherievergiftung, p. 226.

Campana, R. und **Carbone,** Verhalten des Leprabacillus einigen Fermenten gegenüber, p. 289.

Gaertner, Eine neue Katzenseuche, p. 232.

Schöbl, Otto, Untersuchungen über die passive Immunität bei Hühnercholera, p. 285.

Toyosumi, H., Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. V. Ueber die Widerstandsfähigkeit tierischer Milzbrandbacillen, p. 275.

Xylander, Die Komplementbindungsreaktion bei Syphilis, Impfpocken und anderen Infektionskrankheiten, p. 290.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Am 27. August entschlief in Kopenhagen nach kurzem Leiden

Herr

Professor Dr. Emil Chr. Hansen.

Wir teilen diese Trauerkunde den Lesern des Centralblattes für Bakteriologie und Parasitenkunde, als dessen Mitarbeiter und verdienstvoller Mitherausgeber der Verstorbene seit dem Beginne der Zeitschrift gewirkt hat, in tiefster Trauer mit.

Redaktion und Verlag
des
Centralblattes für Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 51. Heft 4.

Nachdruck verboten.

Zur Biologie der Tuberkelbacillen.

[Aus der experimentellen Abteilung des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie zu Marburg.]

Von Dr. C. **Siebert.**

Im Dezember 1908 machte ich in der Gesellschaft zur Beförderung der gesamten Naturwissenschaften zu Marburg einige vorläufige Mitteilungen über das Ergebnis von Versuchen, die von mir vorgenommen worden waren, um festzustellen, ob sich durch nachträglichen Zusatz von Natronlauge und Glyzerin zu einer Nährbouillon, auf der schon eine Zeitlang Tuberkelbacillen gewachsen waren, die Ausbeute an Bacillen und gleichzeitig der toxische Wert der Bouillon steigern läßt. Bei diesen Versuchen waren einige für die Biologie der Tuberkelbacillen wichtige Feststellungen gemacht worden. Inzwischen habe ich die Versuche weiter fortgesetzt und will im folgenden zusammenfassend darüber berichten.

Die Versuche umfassen zwei größere Reihen. Die Ergebnisse sind in den Tabellen (A, B und C) zusammengestellt. Zur Erleichterung der Uebersicht habe ich im Text durch in Klammern beigefügte Buchstaben und Nummern auf die entsprechenden Rubriken der Tabellen hingewiesen.

In einer Versuchsreihe (A) wurden je 40 ccm Glyzerinbouillon in Erlenmeyer-Kölbchen abgefüllt und sterilisiert. Die Glyzerinbouillon, in der üblichen Weise hergestellt, enthielt in 1 Liter Fleischwasser (1 Teil Pferdefleisch auf 4 Teile Wasser), 10 g Pepton Witte, 5 g Kochsalz und 30 ccm = 37 g Glyzerin. Die Reaktion wurde durch Zusatz von Natronlauge so eingestellt, daß in einem Liter 10 ccm Normallauge vorhanden waren (Indikator Lackmus). Diese Kölbchen wurden zum Teil mit Tuberkelbacillen menschlichen Ursprungs (unserem Stamm Tb. 1), zum Teil mit Rindertuberkelbacillen (unserem Stamm Tb. 18) geimpft und mit einigen ungeimpften Kölbchen, die dieselbe Menge derselben Nährbouillon enthielten, im Brutraum bei 37° nebeneinander aufgestellt. Beide zu diesem Versuch benutzten Tb.-Stämme waren jahrelang auf künstlichem Nährboden fortgezüchtet worden.

Ein Teil der Tb.-Kulturen blieb ohne weiteren Zusatz stehen (A I, II, IV, VIII und XI). In je 2 Tb. 1- und Tb. 18-Kulturen wurde nach 16 bezw. 39 Tagen durch Zusatz von steriler $N/_{10}$ Natronlauge die ursprüngliche Reaktion (d. h. 10 N. Lauge in 1 Liter) wiederhergestellt (A III, V, VI und IX). In je zwei weiteren Kölbchen wurde der Bouillon nach 39-tägigem Wachstum der Tb. außer der Lauge noch je 4,4 ccm 10-proz. sterile Glyzerinlösung zugesetzt (A VII und X). Bei der Berechnung der zuzusetzenden Lauge wurde berücksichtigt, daß sich das Volumen der Flüssigkeit durch Verdunsten verringert hatte, es wurde nur soviel Lauge zugesetzt, daß die noch vorhandene Flüssigkeitsmenge 10 N.-Lauge pro Liter enthielt.

In der zweiten Versuchsreihe (B) sollte festgestellt werden, ob durch einen Zusatz von Marmor zur frischen Nährbouillon das Wachstum der Tb. in einer ähnlichen Weise beeinflußt werden kann, wie durch nachträglichen Zusatz von Natronlauge zur Nährbouillon, auf der schon einige Zeit Tb. gewachsen waren. Es wurden zu diesem Zweck Erlenmeyer-Kolben mit je 50 ccm einer Glyzerinbouillon beschickt, die sich von der zum ersten Versuch benutzten Bouillon insofern unterschied, daß sie nur 2,5 ccm N.-Lauge im Liter und 3,4 Gew. Proz. Glyzerin enthielt. In einen Teil dieser Kölbchen wurde je ein ca. 2 g schweres Stück Marmor gebracht. Die Kölbchen wurden dann sterilisiert, mit Ausnahme von zweien mit einer Tb. 1-Kultur geimpft und neben den zwei ungeimpft gebliebenen Kölbchen im Brutraum bei 37° aufgestellt. Nach 23-tägigem Wachstum der Tb. wurde einigen der Marmor enthaltenden Kulturen Glyzerin zugesetzt (B VII, XII). Ein Teil der ohne Marmor gelassenen Kulturen erhielt einen Zusatz von Natronlauge (B V, X) bezw. von Natronlauge und Glyzerin (B VI, XI).

Bei den zur Untersuchung gekommenen Kulturen wurde bestimmt:

I. Die Reaktion.
II. Die Menge der Trocken-Tb.
III. Die Menge des noch vorhandenen Glyzerins.

Außerdem wurde bei einem Teil der ersten Versuchsreihe der Tuberkulinwert der Nährbouillon bestimmt.

Methoden.

Zur Bestimmung der Reaktion wurde anfangs nur Lackmuspapier als Indikator benutzt. Nachdem durch einen Vorversuch der Säure- bezw. Alkalitätsgrad annähernd festgestellt war, wurden 6 Reagensgläser mit je 1 ccm des zu prüfenden Filtrats beschickt und dann $N/_{100}$ Lauge bezw. Säure in der Weise zugesetzt, daß jedes folgende Reagensglas 0,1 ccm $^1/_{100}$ Normallösung mehr erhielt als das vorhergehende. Die Reaktion der Mischungen wurde durch Auftupfen auf rotes und blaues Lackmuspapier ermittelt.

Später benutzte ich neben Lackmuspapier Phenolphthalein als Indikator. Ich brachte auch hierbei je 1 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit in Reagensgläser, setzte je 2 Tropfen Phenolphthaleinlösung und dann um 0,1 ccm steigende Mengen $^1/_{100}$ Normallösung hinzu.

Wird an Stelle von Lackmus Phenolphthalein als Indikator verwendet, so braucht 1 ccm Tb.-Bouillon zur Neutralisation 0,5 bis 0,8 ccm $^1/_{100}$ Lauge mehr als bei der Verwendung von Lackmus.

Madsen (1) rät von der Verwendung von Lackmus bei der Titration von Nährbouillon ab, weil der Farbumschlag infolge der Verschiedenheit der Dissoziation der 3 H-Atome der Phosphorsäure nicht scharf sei. Er empfiehlt Phenolphthalein, weil hierdurch scharf angegeben werde, wenn alle primären Salze in sekundäre umgebildet sind. Ich habe bei der Titration von Tb.-Bouillon mit Lackmus immer deutlichen Umschlag gehabt, muß aber zugeben, daß bei Verwendung von Phenolphthalein die Titration einfacher auszuführen ist.

Da bei Beginn dieser Arbeit nur Lackmus als Indikator benutzt worden war und da natürlich nur die Zahlen untereinander verglichen werden können, die genau in derselben Weise bestimmt sind, so habe ich bei den in den Tabellen zusammengestellten Werten nur die mit Lackmus gewonnenen berücksichtigt. Es sei hier noch besonders hervorgehoben, daß bei vergleichenden Untersuchungen, wie den vorliegenden, nicht nur mit demselben Indikator gearbeitet werden muß, sondern daß auch stets dieselben Flüssigkeitsmengen zu verwenden sind.

Die Bestimmung der Trocken-Tb. geschah in folgender Weise.

Der Kölbcheninhalt wurde durch ein gewogenes Filter filtriert, und hierbei dafür gesorgt, daß die gesamte Bacillenmasse aus dem Kölbchen auf das Filter kam. Das Filtrat wurde dann gemessen und die durch die Tb. auf dem Filter zurückgehaltene, oder durch Verdunsten verloren gegangene Flüssigkeitsmenge durch destilliertes Wasser in der Weise ersetzt, daß die nötige Menge Wasser zum Nachwaschen der auf dem Filter gesammelten Tuberkelbacillen benutzt wurde. Wenn z. B. aus ursprünglich vorhandenen 40 ccm Nährbouillon 26 ccm Filtrat resultierte, so wurde das Filter mit 14 ccm Wasser nachgewaschen. Auf diese Weise wurde die den Tb. anhaftende Bouillon abgespült und mit dem ersten Filtrat vereinigt.

Außerdem hatte die übereinstimmende Wiederherstellung der ursprünglichen Flüssigkeitsmenge den Vorteil, daß die bei der Bestimmung der Reaktion, des Glyzerins und der toxischen Wirkung erhaltenen Zahlen direkt untereinander vergleichbar waren.

Tabelle A.

Reaktion, Ausbeute an Trocken-Tb. und Verbrauch an Glyzerin von je 40 ccm Glyzerin-Fleischpeptonbouillon, nach verschieden langem Wachstum von Menschen-Tb. (Tb. 1) und Rinder-Tb. (Tb. 18) auf derselben.

Die Nährbouillon hatte vor der Impfung mit Tb. eine Reaktion von 10 ccm Normallauge im Liter (Indikator Lackmus), und enthielt 3,7 Proz. Glyzerin.

	Angaben über die Kulturen				Untersuchungsergebnisse					
No.	Alter der Kulturen zur Zeit der Untersuchung	Art und Menge der Zusätze			Reaktion berechnet auf 1 Liter		Menge der Trocken-Tb.		Menge des Glyzerins berechnet auf 100 ccm Bouillon	
		? Tage nach der Impfung mit Tb. a	zu einer Tb. 1-Kultur b	zu einer Tb. 18-Kultur c	in Tb. 1-Bouillon d	in Tb. 18-Bouillon e	aus Tb. 1-Bouillon f	aus Tb. 18-Bouillon g	in Tb. 1-Bouillon h	in Tb. 18-Bouillon i
I	16 Tage	—	—	—	4 ccm N.-Lauge	6 ccm N.-Lauge	0,168 g	0,145 g	—	—
II	39 „	—	—	—	18 ccm N.-Säure	10 ccm N.-Säure	0,161 „	0,178 „	—	—
III	39 „	16 Tage	0,16 ccm N.-NaOH	0,08 ccm N. NaOH	9 ccm N.-Säure	6 ccm N.-Säure	0,203 „	0,162 „	—	—
IV	75 „	—	—	—	7 ccm N.-Säure	7 ccm N.-Säure	0,131 „	0,123 „	1,12 g	1,53 g
V	75 „	16 Tage	0,16 ccm N. NaOH	0,08 ccm N. NaOH	6 ccm N.-Säure	6 ccm N.-Säure	0,136 „	0,137 „	1,32 „	1,54 „
VI	75 „	39 „	0,9 ccm N. NaOH	0,6 ccm N. NaOH	6 ccm N.-Säure	3 ccm N.-Säure	0,234 „	0,257 „	0,09 „	0,11 „
VII	75 „	39 „	0,9 ccm N. NaOH 0,5 g Glyzerin = 1,25 %	0,6 ccm N. NaOH 0,5 g Glyzerin = 1,25 %	5 ccm N.-Säure	3 ccm N.-Säure	0,304 „	0,31 „	0,81 „	1,39 „
VIII	89 „	—	—	—	7 ccm N.-Säure	6 ccm N.-Säure	0,113 „	0,133 „	1,16 „	1,43 „
IX	89 „	39 Tage	—	0,6 ccm N. NaOH	—	11 ccm N.-Säure	—	0,216 „	—	0,12 „
X	89 „	39 „	—	0,6 ccm N. NaOH 0,5 g Glyzerin = 1,25 %	—	6 ccm N.-Säure	—	0,33 „	—	0,08 „
XI	119 „	—	—	—	8 ccm N.-Säure	6 ccm N.-Säure	0,109 g	0,139 „	1,17 „	0,32 „

Die auf dem Filter gesammelten, und wie oben angegeben ausgewaschenen Tuberkelbacillen wurden bei 90° bis zum konstanten Gewicht getrocknet.

Zur Glyzerinbestimmung benutzte ich die Methode von Shukoff und Schestakoff (2). Von den auf 40 bezw. 50 ccm ergänzten Filtraten wurden 25 ccm bei 70° auf dem Wasserbad bis zur Sirupkonsistenz eingeengt, der Rückstand wurde mit je 20 g völlig wasserfreiem Natriumsulfat verrieben und im Soxhlet 5 Stunden lang mit Aceton extrahiert. Das auf diese Weise erhaltene Glyzerinextrakt kam in den mit einem Glasstopfen verschlossenen Extraktionskölbchen zur Wägung, nachdem es vorher 10 Stunden lang im Thermostaten bei 75 bis 80° getrocknet war.

Die Bestimmung des Tuberkulinwertes geschah Mitte Oktober 1908 mit Hilfe von Meerschweinchen, die am 29. Aug. desselben Jahres mit je $^1/_2$ mg Tb. 1 infiziert worden waren. Daß die Meerschweinchen zu der Tuberkulinprüfung „reif“ waren, war vor Beginn der Prüfung in der Weise festgestellt worden, daß ein Meerschweinchen dieser Serie mit staatlich geprüftem Tuberkulin, welches nach der in unserem Institut üblichen Bezeichnung einen Wert von $1500 + \mathrm{M}^{\mathrm{Tb.}}$ entspricht, geprüft wurde. $1500 + \mathrm{M}^{\mathrm{Tb.}}$ bedeutet, daß 1500 g tuberkulöse Meerschweinchen durch 1 ccm dieses Tuberkulins getötet werden. Das zur Prüfung herausgegriffene Tier wog 470 g und ging innerhalb von 16 Stunden nach der Injektion von 0,31 ccm Tuberkulin zugrunde; also $0{,}31 = 470 + \mathrm{M}^{\mathrm{Tb.}}$ und demnach $1 = 1500 + \mathrm{M}^{\mathrm{Tb.}}$

Die Untersuchung wurde mit der Prüfung auf $200 + \mathrm{M}^{\mathrm{Tb.}}$ begonnen und nicht über $600 + \mathrm{M}^{\mathrm{Tb.}}$ ausgedehnt. Die Tuberkulinimpfung erfolgte durchweg subkutan.

Ergebnisse.

I. Reaktion.

Die in Tabelle A zusammengestellten Daten ergeben folgendes:

Nach 39 Tage langem Wachstum von Tuberkelbacillen auf einer Bouillon, die ursprünglich 10 ccm N.-Lauge im Liter enthielt, ist die alkalische Reaktion des Nährbodens in saure Reaktion übergegangen (A II d u. e); der nach 16-tägigem Wachstum der Tb. erfolgte Zusatz einer geringen Menge von N. Natronlauge zu der Nährbouillon hatte zur Neutralisierung nicht ausgereicht, indem die Tb. 1-Bouillon 9 ccm N.-Säure, die RdTb.-Bouillon 6 ccm N.-Säure im Liter enthielt (A III d, e). Die nicht nachträglich mit Lauge versetzte Tb. 1-Bouillon enthielt 18 N.-Säure, die RdTb.-Bouillon 10 ccm N.-Säure im Liter (A II d, e). Ein so hoher Säuregrad wie 18 N.-Säure im Liter wurde nur in diesem einen Fall beobachtet. Die nach 39-tägigem Wachstum mit einer größeren Menge Lauge versetzte Tb.-Bouillon hatte 36 Tage später keine von der nicht mit Lauge versetzten, wesentlich verschiedene Reaktion (IV u. VI d, e). Die alkalische Reaktion war also auch hier von neuem wieder durch die sich vermehrenden Tuberkelbacillen in saure Reaktion verwandelt worden. Der Säuregrad, der nach 75, 89 und 119 Tagen untersuchten Filtrate schwankte zwischen 3 und 11 ccm N.-Säure im Liter (V bis XI d, e).

Die Ergebnisse der Reaktionsbestimmungen der Versuchsreihe B, in der nur der Stamm Tb. 1 Verwendung fand, führe ich nicht im einzelnen auf, da dieselben im wesentlichen dieselben Resultate brachten, wie in der ersten Versuchsreihe. Erwähnen will ich nur, daß die Gegenwart des Marmors in den nicht mit einem nachträglichen Glyzerinzusatz versehenen Kulturen eine Säurebildung von 4 bis 5 ccm N.-Säure im Liter nicht verhindert hat (B II d, IV d, IX d).

Zwischen Reaktion einerseits, Ausbeute an Trocken-Tb.- und Toxinbildung andererseits, waren keine direkten Beziehungen zu konstatieren.

Wenn auch in einzelnen Fällen der untersuchte RdTb.-Stamm etwas weniger Säure gebildet hatte als der Tb. 1-Stamm, so war doch kein prinzipieller Unterschied zwischen der Säurebildung des Tb.-Stammes menschlicher Herkunft und des RdTb.-Stammes zu konstatieren.

Es steht dieser Befund in einem gewissen Gegensatz zu den Untersuchungen Smiths. Weber referiert im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann über Smiths Befunde folgendes:

„Einen weiteren, auf den biologischen Eigenschaften beruhenden Unterschied in dem Verhalten der Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft hat Smith beobachtet. Er beruht auf der durch die Zersetzung des Glyzerins hervorgerufenen Reaktionsveränderung einer schwachsauren Glyzerinbouillon (Bouillon mit 3—5 Proz. Glyzerin und einem Säuregrad von 2 Proz. Normalsäure).

Bei den vom Rinde stammenden Tuberkelbacillen geht die Azidität der Nährbouillon dauernd zurück, sie nähert sich allmählich dem Neutralpunkte, kann ihn sogar überschreiten, so daß eine Azidität oder Alkalität von ca. 0,1—0,2 erreicht wird, wenn die Haut über die ganze Fläche gewachsen ist. Eine Aenderung der Reaktion tritt dann nicht mehr ein.

Eine ganz andere Kurve weisen dagegen die Bacillen des Typus humanus auf. Der Säuregrad vermindert sich zunächst während des ersten Monats, steigt dann aber wieder während des zweiten Monats und schwankt mehr oder weniger, erreicht jedoch niemals den Neutralpunkt.

Dieser Unterschied in der Säurekurve, dem Smith differentialdiagnostische Bedeutung beilegt, wird auch durch langes Fortzüchten nicht verwischt.“

Weber fügt dann hinzu, daß nach seinen Erfahrungen nur möglichst frisch gezüchtete Tb.-Stämme untereinander verglichen werden sollten. Ob bei den vorliegenden Untersuchungen die übereinstimmende Reaktion der Tb. des „Typus humanus“ und des „Typus bovinus“ auf das jahrelange Fortzüchten auf künstlichem Nährboden zurückzuführen ist, soll durch weitere Versuche an frischen Kulturen festgestellt werden.

Ferner aber unterscheidet sich die Smithsche Versuchsanordnung von der meinen noch dadurch, daß Smith ausging von einer Nährbouillon von 20 ccm N.-Säure im Liter, bei Phenolphthalein als Indikator (also nach dem oben Gesagten ca. 12 ccm N.-Säure bei Lackmus), während ich eine Nährbouillon von 10 ccm N.-Lauge im Liter benutzte.

II. Ausbeute an Trocken-Tb.

a) Nährbouillon ohne nachträglichen Zusatz von Lauge und Glyzerin.

Vergleichen wir im ersten Versuch (A) die nach verschieden langem Wachstum erzielte Ausbeute an Tb. 1, so finden wir, daß die größte Ausbeute schon nach 16 Tagen erzielt wurde (A I f), nach 39 Tagen war dieselbe annähernd ebensogroß (A II f). Nach 75 Tagen war eine Verringerung der Ausbeute zu konstatieren (A IV f), nach 89 und 119 Tagen war die Ausbeute noch kleiner geworden (A VIII und XI f). Der Rückgang der Ausbeute betrug bei den 89 und 119 Tage alten Kulturen, gegenüber den 16 und 39 Tage alten, 33 Proz. (A VIII f und XI f gegenüber A I f und II f).

Bei den Rinder-Tb. war die Ausbeute nach 39-tägigem Wachstum am größten (A II g), sie entsprach da annähernd der mit Menschen-Tb. am 16. Tag erzielten Ausbeute. Nach 89 und 119 Tagen war auch bei den Rinder-Tb. die Ausbeute zurückgegangen, aber nur um 24 Proz. (A VIII g und XI g gegenüber A II g).

In der Versuchsreihe B betrug die Ausbeute aus 50 ccm Nährbouillon nach 23-tägigem Wachstum 0,492 g Tb. 1 (B I e). Am 52. Tage wurden nur noch 0,209 g (B III e), am 79. Tage aus einer Kultur 0,165 g, aus einer anderen 0,154 g (B VIII e) gewonnen. Also war in dieser Versuchsreihe die Ausbeute an Tb. 1 sogar um ca. 66 Proz. zurückgegangen.

Vermutlich wird die Verringerung der Ausbeute an Tb. bei längerer Berührung der Tb. mit der Nährbouillon auf autolytische Vorgänge zurückzuführen sein, wie solche durch **Emmerich** und **Löw** (3) durch **Conradi** (4), durch **Malfianto** (5) u. a. bei anderen Bakterienarten nachgewiesen sind. **Emmerich** und **Löw** schildern den Vorgang so, daß in den Flüssigkeitskulturen von Bakterien mit der Zeit enzymatische Stoffe entstehen, die von den Mikroben selbst erzeugt werden und diese schließlich selbst auflösen.

Vielleicht handelt es sich aber bei der Verringerung der Ausbeute an Tb. nur um eine Auslaugung der Bacillen, beruhend auf osmotischen Vorgängen.

b) Nährbouillon mit nachträglichem Zusatz von Natronlauge.

In der Versuchsreihe A erhielten je zwei Kölbchen nach 16-tägigem Wachstum einen Zusatz von 1,6 bezw. 0,8 ccm $N/_{10}$ Natronlauge, je zwei weitere nach 39-tägigem Wachstum einen solchen von 9 bezw. 6 ccm $N/_{10}$ Natronlauge.

Durch den geringen Zusatz nach 16 Tagen konnte weder 26 Tage noch 59 Tage nach dem Zusatz ein wesentlicher Unterschied in der Ausbeute gegenüber der ohne Laugenzusatz gelassenen Bouillon konstatiert werden (A III f, g und V f, g gegenüber A II f, g und IV f, g).

Anders gestaltete sich die Sache bei den Kulturen, die nach 39-tägigem Wachstum mit einer größeren Menge Lauge versetzt waren.

Bei diesen wurde nach 75-tägigem Wachstum, also 36 Tage nach dem Zusatz der Lauge, 0,234 g Tb. 1 und 0,257 g RdTb. gewonnen (A VI f, g), gegenüber 0,131 g Tb. 1 und 0,123 g RdTb. aus der Nährbouillon, der keine Lauge zugesetzt war (A IV f, g). Durch Wiederherstellung der alkalischen Reaktion konnte also aus derselben Menge Bouillon annähernd die doppelte Menge Tb. gewonnen werden. Nach 89-tägigem Wachstum war auch hier die Ausbeute wieder zurückgegangen (A IX g gegenüber A VI g).

In der Versuchsreihe B wurden 2 Kulturen nach 23-tägigem Wachstum der Tb. je 0,9 ccm Norm.-NaOH zugesetzt. Eine dieser Kulturen ergab 29 Tage nach dem Zusatz der Natronlauge, also 52 Tage nach der Impfung mit Tb., 0,293 g Trocken-Tb. 1 (B V e) gegen 0,209 g in der an demselben Tag abfiltrierten Kultur ohne Zusatz (B III e). Aus der anderen wurde 56 Tage nach dem Zusatz der Natronlauge, also nach 79-tägigem Wachstum der Tb. 0,316 g Trocken-Tb. erzielt (B X e), während die am selben Tag filtrierten 2 Kulturen ohne Zusatz nur 0,165 bezw. 0,154 g Trocken-Tb. (B VIII e) ergaben.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle B.

Reaktion, Ausbeute an Trocken-Tb. und Verbrauch an Glyzerin von je 50 ccm Glyzerin-Fleischpeptonbouillon, nach verschieden langem Wachstum von Menschen-Tb. (Tb. 1) auf derselben.

Die Nährbouillon hatte vor der Impfung mit Tb. eine Reaktion von 2,5 ccm N.-Lauge im Liter (Indikator Lackmus) und enthielt 3,4 Proz. Glyzerin.

Einem Teil der mit der Nährbouillon beschickten Kölbchen wurde vor der Sterilisation je ein ca. 2 g schweres Stück Marmor zugesetzt.

No.	Angaben über die Kulturen			Untersuchungsergebnisse		
	Alter der Kulturen zur Zeit der Untersuchung	Mit oder ohne Marmor	23 Tage nach der Impfung mit Tb. wurde je einer Kultur zugesetzt	Reaktion berechnet auf 1 Liter	Menge der Trocken-Tb.	Menge des Glyzerins berechnet auf 100 ccm Bouillon
	a	b	c	d	e	f
I	23 Tage	ohne Marmor	—	8 ccm N. S.	0,492 g	1,38 g
II	23 „	mit Marmor	—	4 ccm N. S.	0,476 „	1,14 „
III	52 „	ohne Marmor	—	13 ccm N.S.	0,209 „	1,32 „
IV	52 „	mit Marmor	—	5 ccm N. S.	0,244 „	0,88 „
V	52 „	ohne Marmor	0,9 ccm N. NaOH	5 ccm N. L.	0,293 „	1,24 „
VI	52 „	ohne Marmor	0,9 ccm N. NaOH 0,6 g Glyzerin = 1,2 Proz.	5 ccm N. L.	0,391 „	1,334 „
VII	52 „	mit Marmor	0,6 g Glyzerin = 1,2 Proz.	3 ccm N. L.	0,344 „	1,832 „
VIII	79 „	ohne Marmor	—	12 ccm N. S. 12 ccm N. S.	0,165 „ 0,154 „	1,316 „ 1,276 „
IX	79 „	mit Marmor	—	5 ccm N. S.	0,25 „	0,828 „
X	79 „	ohne Marmor	0,9 ccm N. NaOH	5 ccm N. L.	0,316 „	0,888 „
XI	79 „	ohne Marmor	0,9 ccm N. NaOH 0,6 g Glyzerin = 1,2 Proz.	3 ccm N. S.	0,426 „	1,032 „
XII	79 „	mit Marmor	0,6 g Glyzerin = 1,2 Proz.	4 ccm N. L. 6 ccm N. L.	0,406 „ 0,523 „	0,828 „ 0,376 „

c) Nährbouillon mit nachträglichem Zusatz von Natronlauge und Glyzerin.

In der Versuchsreihe A wurden am 39. Tage je 2 Kolben neben 9 bezw. 6 ccm $N/_{10}$ Lauge noch je 0,5 g Glyzerin, in 4 ccm Wasser gelöst, zugesetzt. In diesen Kulturen betrug die Ausbeute nach 75-tägigem Wachstum, also 36 Tage nach dem Laugen- und Glyzerinzusatz, 0,304 g Tb. 1 und 0,31 g RdTb. (A VII f, g), gegenüber 0,234 g Tb. 1 und 0,257 g RdTb. (A VI f, g), die auf einer Nährbouillon gezüchtet waren, der nachträglich nur Natronlauge zugesetzt war, und gegenüber 0,131 g Tb. 1 und 0,123 g RdTb. (A IV f, g) aus Nährbouillon ohne nachträgliche Zusätze. Nach 89-tägigem Wachstum wurden 0,33 g RdTb. (A X g) gewonnen.

Der gleichzeitige erneute Zusatz von Lauge und Glyzerin veranlaßte demnach in der sonst gleichen Bouillon eine ca. 2,8mal so starke Ausbeute an Tb.

In der Versuchsreihe B hatte der nach 23-tägigem Wachstum erfolgte Zusatz von 0,6 g Glyzerin und 0,9 ccm Norm.-NaOH ähnlich günstigen

Einfluß auf die Ausbeute an Tb. wie beim ersten Versuch. Es wurden hier nach 52-tägigem Wachstum 0,391 g (B VI e) nach 79-tägigem Wachstum 0,426 g Trocken-Tb. (B XI e) gewonnen gegenüber 0,209 g (B III e) bezw. 0,16 g (B VIII e) aus der ohne Zusatz gelassenen Nährbouillon.

d) Nährbouillon mit Marmor.

In den mit Marmor versehenen Kulturen der Versuchsreihe B war die Ausbeute an Trocken-Tb. nach 23-tägigem Wachstum annähernd dieselbe, wie die Ausbeute aus den ohne Zusatz gelassenen Kulturen (B I e und II e). Nach 52 Tagen betrug die Ausbeute 0,244 g (B IV e) gegenüber 0,209 g (B III e) in der Nährbouillon ohne Marmor, nach 79 Tagen 0,25 g (B IX e) gegenüber 0,16 g (B VIII e) ohne Marmor. Der Zusatz von Marmor hat also die Ausbeute an Trocken-Tb. günstig beeinflußt, wenn auch nicht in demselben Maße wie sie durch den nachträglichen Zusatz von Natronlauge zur Nährbouillon erreicht wurde.

e) Nährbouillon mit Marmor und nachträglichem Zusatz von Glyzerin.

In den 3 mit Marmor versehenen Kulturen der zweiten Versuchsreihe, denen nach 23-tägigem Wachstum 0,6 g Glyzerin zugesetzt worden war, betrug die Ausbeute 29 Tage nach diesem Zusatz 0,344 g (B VII e), 56 Tage nach demselben in einer Kultur 0,406 g, in einer anderen 0,523 g (B XII e), im Durchschnitt also 0,46 g. Diese Ausbeute ist der ähnlich, welche aus Nährbouillon mit nachträglichem Zusatz von Natronlauge und Glyzerin erzielt wurde.

Der Zusatz von Marmor zur Nährbouillon hat also bei nachträglicher Ergänzung des verbrauchten Glyzerins einen ähnlichen günstigen Erfolg bezüglich der Ausbeute an Tb., wie der nachträgliche Zusatz von Natronlauge zur Nährbouillon.

In den bisher beschriebenen 2 Versuchsreihen ist die Frage nicht berücksichtigt worden, ob schon der Zusatz von Glyzerin allein, ohne gleichzeitigen Zusatz von Alkali, das Wachstum der Tuberkelbacillen günstig beeinflußt. Hierüber hat eine dritte Versuchsreihe Aufschluß gegeben, die gleichzeitig im wesentlichen die Befunde der früheren Versuche bestätigt hat. Um Wiederholungen zu vermeiden, teile ich aus diesem Versuch nur folgendes mit.

33 Tage nach der Impfung der Glyzerinbouillon mit Tb. 1 wurde verschiedenen Kulturen, die teils ohne jeden anderen Zusatz gelassen waren, teils je 1 Stück Marmor enthielten, je 0,6 g Glyzerin, gelöst in 25 ccm Wasser, zugesetzt. 12 Tage nach dem nachträglichen Glyzerinzusatz betrug die Ausbeute an Trocken-Tb. in einer Kultur ohne Marmor 0,223 g (ohne nachträglichen Glyzerinzusatz 0,225 g, bei nachträglichem Zusatz von 25 ccm Wasser ohne Glyzerin 0,202), in einer Kultur mit Marmor wurden an demselben Tage 0,316 g Trocken-Tb. gefunden (ohne nachträglichen Glyzerinzusatz 0,261 g, bei nachträglichem Zusatz von 25 ccm Wasser ohne Glyzerin 0,251 g). 42 Tage nach dem Glyzerinzusatz ergab eine Kultur ohne Marmor 0,189 g (ohne nachträglichen Glyzerinzusatz 0,145 g, bei nachträglichem Zusatz von 25 ccm Wasser ohne Glyzerin 0,184 g), eine mit Marmor versetzte Kultur brachte an demselben Tage 0,438 g (ohne nachträglichen Glyzerinzusatz 0,28 g, bei nachträglichem Zusatz von 25 ccm Wasser ohne Glyzerin 0,32 g).

Der nachträgliche Zusatz von Glyzerin zu einer Tb.-Bouillon hat also nur dann einen das Wachstum der Tb. begünstigenden Einfluß, wenn gleichzeitig die durch das Wachstum der Tb. gebildete Säure durch den von vornherein erfolgten Zusatz von Marmor, oder durch nachträglichen Zusatz von Natronlauge gebunden wird.

Vergleichen wir im Versuch A die Ausbeute der beiden Stämme untereinander, so finden wir zunächst die bekannte Tatsache bestätigt, daß Tuberkelbacillen menschlichen Ursprungs im allgemeinen schneller wachsen, als Rinder-Tuberkelbacillen. Bei genügend langem Wachstum war aber kein prinzipieller und wesentlicher Unterschied in der Ausbeute beider Stämme zu bemerken. Die Maximalausbeute betrug in der Bouillon ohne nachträglichen Zusatz bei Tb. 1 nach 16-tägigem Wachstum 0,168 g (A I f). Bei Tb. 18 nach 39-tägigem Wachstum 0,178 g (A II g).

Aus der Bouillon, der nach 16-tägigem Wachstum der Tb. Natronlauge zugesetzt worden war, wurde 23 Tage nach diesem Zusatz 0,203 g Tb. 1 (A III f) und 0,162 g Tb. 18 (A III g) gewonnen. Auf der Bouillon mit stärkerem Laugenzusatz waren am 75. Tage 0,234 g Tb. 1 (A VI f) und 0,257 g Tb. 18 (A VI g) gewachsen. Kulturen, denen nachträglich gleichzeitig Glyzerin und Natronlauge zugesetzt worden war, brachten 36 Tage nach diesem Zusatz 0,304 g Tb. 1 (A VII f) und 0,31 g Tb. 18 (A VII g).

III. Glyzerinbestimmung.

Meine Versuche haben weiter bewiesen, daß Tuberkelbacillen relativ große Mengen von Glyzerin aufzehren. Während nach Levy (6) eine 80-proz. Glyzerinlösung die Tuberkelbacillen bei 37° innerhalb von 48 Stunden tötet, so gehört ein Glyzeringehalt des Nährbodens von 3—4 Proz. zu den Lebensbedingungen der Tuberkelbacillen.

Die in der Versuchsreihe A benutzte Nährbouillon enthielt, wie oben angegeben, in 100 ccm 3,7 g Glyzerin, die Nährbouillon der Versuchsreihe B enthielt in 100 ccm 3,4 g Glyzerin. In zwei Kölbchen vom ersten Versuch, die neben den geimpften Kölbchen bei 37° ungeimpft aufbewahrt worden waren, bestimmte ich nach 97 Tagen die Glyzerinmenge und fand in dem einen Fall 3,58 Proz., im anderen 3,65 Proz. Glyzerin. Von den beiden ungeimpft gelassenen Kölbchen des zweiten Versuchs wurde das eine nach 23-tägiger Aufbewahrung, neben den geimpften Kölbchen bei 37°, untersucht und ergab 3,42 g Glyzerin. Das andere Kölbchen kam, nachdem es 55 Tage neben den geimpften Kölbchen im Brütraum gestanden hatte, zur Untersuchung; es wurden zwei Glyzerinbestimmungen ausgeführt, von denen die eine 3,408 Proz., die andere 3,392 Proz. Glyzerin ergab. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß durch die wochenlange Aufbewahrung der Glyzerinbouillon bei 37° der Glyzeringehalt nicht beeinflußt wird. Ferner beweisen diese Versuche die Brauchbarkeit der benutzten Methode der Glyzerinbestimmung.

a) Nährbouillon ohne Zusätze.

In der Versuchsreihe A ist der Glyzeringehalt nach 75-tägigem Wachstum der Tb. bei dem Stamm Tb. 1 von 3,7 Proz. auf 1,12 Proz. (A IV h), bei dem Stamm Tb. 18 auf 1,53 Proz. (A IV i) zurückgegangen und hat von da ab keine wesentliche Veränderung mehr erfahren. In

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

der Versuchsreihe B ist der ursprüngliche Gehalt von 3,4 Proz. Glyzerin nach 23 Tagen auf 1,38 Proz. (B I f), nach 52 Tagen auf 1,32 Proz. (B III f), nach 79 Tagen in einem Kölbchen auf 1,316 Proz. und in einem anderen auf 1,276 Proz. (B VIII f) zurückgegangen.

b) Nährbouillon mit nachträglichem Zusatz von Natronlauge.

Der nachträgliche Zusatz von Natronlauge zur Nährbouillon hatte einen erheblich höheren Glyzerinverbrauch zur Folge. In der Nährbouillon der Versuchsreihe A, der nach 39-tägigem Wachstum der Tb. Lauge zugesetzt war, kamen 36 Tage später bei der Glyzerinbestimmung der Tb. 1-Bouillon nur noch 0,09 Proz. (A VI h), bei der Tb. 18-Bouillon nur noch 0,11 Proz. (A VI i) zur Wägung. 50 Tage nach dem Laugenzusatz hatte die Glyzerinbestimmung in der noch übrig gebliebenen Tb. 18-Bouillon dasselbe Resultat (A IX i). Auch in der Versuchsreihe B hat der nachträgliche Zusatz von Natronlauge neben der dadurch erzielten größeren Ausbeute an Tb. einen stärkeren Glyzerinverbrauch zur Folge gehabt, wenn auch das Glyzerin hier nicht so vollständig aufgebraucht wurde, als im ersten Versuch. 49 Tage nach dem Laugenzusatz waren noch 1,24 Proz. (B V f), 56 Tage nach demselben noch 0,888 Proz. Glyzerin (B X f) vorhanden.

c) Nährbouillon mit nachträglichem Zusatz von Natronlauge und Glyzerin.

In der ersten Versuchsreihe war 36 Tage nach dem Zusatz von Natronlauge und Glyzerin von den im ganzen vorhanden gewesenen 4,95-proz. Glyzerin in der Tb. 1-Bouillon nur noch 0,81 Proz. (A VII h), in der Tb. 18-Bouillon nur noch 1,39 Proz. (A VII i) vorhanden; 14 Tage später gelangte in der noch übrig gebliebenen Tb. 18-Kultur nur noch 0,08 Proz. Glyzerin zur Wägung (A X i). In der zweiten Versuchsreihe, in der im ganzen 4,6 Proz. Glyzerin zugesetzt waren, fand ich 29 Tage nach dem nachträglichen Glyzerinlaugezusatz noch 1,334 Proz. (B VI f), 56 Tage nach demselben noch 1,032 Proz. Glyzerin (B VII f).

d) Nährbouillon mit Marmor.

Ebenso wie der Zusatz von Marmor einen günstigen Einfluß auf die Ausbeute an Tb. gehabt hat, so ist dementsprechend der Glyzerinverbraucht ein größerer geworden. Nach 23-tägigem Wachstum der Tb. ist der ursprüngliche Gehalt der Nährbouillon von 3,4 Proz. Glyzerin auf 1,14 Proz. (B II f) zurückgegangen, nach 52 Tagen auf 0,88 Proz. (B IV f), nach 79 Tagen auf 0,828 Proz. (B IX f). In der ohne Marmor gelassenen Nährbouillon war nach 23 Tagen 1,38 Proz. (B I f), nach 52 Tagen 1,32 Proz. (B III f), nach 79 Tagen 1,3 Proz. (B VIII f) Glyzerin vorhanden.

e) Nährbouillon mit Marmor und nachträglichem Zusatz von Glyzerin.

Von den im ganzen zugesetzten 4,6 Proz. Glyzerin war 29 Tage nach dem nachträglichen Glyzerinzusatz noch 1,832 Proz. Glyzerin (B VII f) vorhanden; 56 Tage nach dem Zusatz enthielt eine Kultur bei einer Ausbeute von 0,406 g Trocken-Tb. noch 0,828 Proz. Glyzerin, eine andere Kultur bei einer Ausbeute 0,523 g Trocken-Tb. nur noch 0,376 Proz. Glyzerin (B XII f).

Auch bei der oben erwähnten dritten Versuchsreihe, die Aufschluß darüber geben sollte, ob schon der Zusatz von Glyzerin allein, ohne

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gleichzeitigen Zusatz von Alkali, das Wachstum der Tuberkelbacillen günstig beeinflußt, entsprach der Glyzerinverbrauch der Menge der auf der Nährbouillon gewachsenen Tuberkelbacillen. Es waren beispielsweise 42 Tage nach dem nachträglichen Glyzerinzusatz in einer Bouillon ohne Marmor bei einer Ausbeute von 0,189 g Trocken-Tb. von vorhanden gewesenen 4,75 Proz. Glyzerin noch 2,45 Proz. vorhanden, während eine Marmor enthaltende Bouillon, mit demselben ursprünglichen Glyzeringehalt, bei einer Ausbeute von 0,438 g Trocken-Tb. nur noch 0,6 Proz. Glyzerin enthielt.

Nach Vorstehendem ist in sämtlichen Tb.-Kulturen mit dem fortschreitenden Wachstum der Tuberkelbacillen eine Abnahme des Glyzeringehalts der Nährbouillon eingetreten, so daß es keinem Zweifel unterliegt, daß Tuberkelbacillen bei der Züchtung auf Glyzerinbouillon Glyzerin verbrauchen. Es scheint mir von Interesse zu sein, hierauf näher einzugehen, da meines Wissens — abgesehen von einer vorläufigen Mitteilung v. Behrings (7) über einen von mir gemeinschaftlich mit Dr. Kraus ausgeführten Versuch — eine Veröffentlichung über den Glyzerinverbrauch noch nicht vorliegt. Nach der mir bekannt gewordenen Literatur und besonders auch nach der Fassung des Artikels „Tuberculinum Kochi“ im Deutschen Arzneibuch scheint mit einer durch das Tuberkelbacillenwachstum veranlaßten Abnahme des Glyzerins bisher gar nicht gerechnet worden zu sein. Im Deutschen Arzneibuch heißt es, daß Tuberkulin durch Eindampfen der glyzerinhaltigen Tb.-Kulturen auf $^1/_{10}$ ihres Volumens hergestellt wird und daß Tuberkulin neben dem wirksamen Stoff etwa 40 Proz. Glyzerin enthält. Da nun zur Herstellung des Tuberkulins in der Regel Nährbouillon mit einem Gehalt von 4 Proz. Glyzerin benutzt wird, so ist nach dem Wortlaut der Pharmakopöe anzunehmen, daß in dem fertigen Tuberkulin noch alles ursprünglich der Nährbouillon zugesetzte Glyzerin vorhanden ist. Dies trifft aber nach dem oben Mitgeteilten nicht zu. Tuberkulin wird nur dann den von der Pharmakopöe vorgeschriebenen Glyzeringehalt haben, wenn ihm nachträglich Glyzerin zugesetzt worden ist. Ich habe 6 verschiedene Kontrollnummern von staatlich geprüftem Tuberkulin aus drei verschiedenen Fabriken untersucht und gefunden, daß der Glyzeringehalt dieser 6 Präparate schwankt zwischen 10,4 und 37,2 g Glyzerin in 100 ccm Tuberkulin.

Fragen wir nun danach, wodurch die Abnahme des Glyzerins veranlaßt wird, so liegen da zwei Möglichkeiten vor: entweder die Tuberkelbacillen liefern Produkte, die das Glyzerin zersetzen, oder die Tuberkelbacillen verbrauchen das Glyzerin, indem sie es direkt zum Aufbau neuer Bacillen verwenden. Mir scheint letztere Annahme mit Rücksicht auf analoge physiologische Vorgänge viel für sich zu haben. Es scheint mir durchaus möglich zu sein, daß die Tuberkelbacillen das Glyzerin aufzehren und in Fett und Wachs umwandeln.

Es ist mir zwar nicht gelungen, in der Literatur eine Angabe darüber zu finden, daß der tierische oder pflanzliche Organismus in der Lage ist, aus Glyzerin direkt Fett aufzubauen. Dagegen ist in zahlreichen Fällen die Bildung von Kohlehydraten aus Glyzerin nachgewiesen worden. So haben Cremer (8) und später Lüthge (9) nachgewiesen, daß unter bestimmten Versuchsbedingungen durch den tierischen Organismus Glyzerin in Glukose verwandelt werden kann. Bertrand (10) fand, als er die von Berthelot gemachte Beobachtung, daß Hodengewebe

Glyzerin in Zucker umwandelt, nachprüfte, daß die Umwandlung von Glyzerin in einen reduzierenden zuckerartigen Körper in der Tat stattfindet, daß sie aber durch einen Mikroorganismus veranlaßt wird. Laurent (11) hat gezeigt, daß etiolierte Kartoffelkeime aus Glyzerin Stärke zu bilden vermögen. Also die Möglichkeit der Bildung von Kohlehydraten aus Glyzerin ist gegeben. Und daß weiter aus Kohlehydraten Fett gebildet wird, ist eine bekannte und feststehende Tatsache. Bezüglich der Bildung des Tb.-Wachses weise ich als Analogon auf die Entstehung des Bienenwachses hin. Ebenso wie das Bienenwachs ein Produkt der Verdauung zuckerhaltiger Nahrung der Biene ist, so ist es wohl denkbar, daß das Wachs der Tuberkelbacillen ein durch diese gebildetes Umwandlungsprodukt des Glyzerins bezw. des aus diesem gebildeten Zuckers ist. Der Glyzerinverbrauch wäre also nach vorstehendem in der Weise zu erklären, daß die Tuberkelbacillen das Glyzerin zunächst in Kohlehydrate und diese dann weiter in Fett und Wachs umwandeln.

Wenn diese Erklärung richtig ist, so wäre a priori anzunehmen, daß von den Tuberkelbacillen ein Nährboden vorgezogen würde, der an Stelle von Glyzerin bereits fertige Kohlehydrate enthält. Nach der Mitteilung verschiedener Autoren kann in der Tat in Tuberkelbacillennährböden Glyzerin bis zu einem gewissen Grade durch Kohlehydrat ersetzt werden. So bezeichnet Sander (12) Kartoffelbrühe ohne jeden anderen Zusatz, Lubinski (13) Kartoffel-Fleischpeptonbouillon als guten Nährboden für Tuberkelbacillen. Miehe (14) gibt an, daß Glyzerin durch Traubenzucker vollkommen ersetzt werden kann. Proskauer und Beck (15) sind dagegen der Ansicht, daß Traubenzucker zwar als Kohlenstoffquelle für die Tuberkelbacillen angesehen werden kann, daß aber daneben ein geringer Glyzerinzusatz unentbehrlich ist. Auch nach unseren Erfahrungen muß die Nährbouillon Glyzerin enthalten, wenn auf derselben dauernd Tuberkelbacillen fortgezüchtet werden sollen, so daß unseres Erachtens das Glyzerin als Kohlenstoffquelle nicht durch Kohlehydrate völlig ersetzbar ist.

Eine analoge Beobachtung haben Proskauer und Beck (15) bezüglich der Stickstoffquelle der Tuberkelbacillen gemacht. Die Tuberkelbacillen verschmähen höhere organische N-haltige Stoffe, die zur Züchtung anderer Mikroben sehr gut verwendbar sind, gedeihen dagegen auf einem künstlichen Nährboden, der aus 0,35 Proz. Ammoniumkarbonat, 0,15 Proz. Monokaliumphosphat, 0,25 Proz. Magnesiumsulfat und 1,5 Proz. Glyzerin besteht, der also als einzige N-Quelle Ammoniumkarbonat enthält.

In der ersten Versuchsreihe A konnte bezüglich des Glyzerinverbrauchs zwischen den Tuberkelbacillen menschlichen Ursprungs und denen bovinen Ursprungs insofern ein Unterschied konstatiert werden, daß durchweg die Glyzerinabnahme bei den menschlichen Tuberkelbacillen eine größere war. Eine Erklärung hierfür liegt vielleicht in folgendem. Schweinitz und Dorset (16) haben bei der Untersuchung von Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft aus schwach virulenten Menschen-Tb. (also aus Tb., die unserm Stamm Tb. 1 entsprechen) 37,41 Proz., aus Rinder-Tb. nur 26,32 Proz. fett- und wachsartige Körper isoliert. Wenn das Glyzerin zur Bildung dieser Körper verbraucht wird, so erklären diese Zahlen in einfacher Weise den Mehrverbrauch von Glyzerin bei unserm Stamm Tb. 1. Die Menschen-Tb. bilden mehr Fett als Rinder-Tb. und verbrauchen deshalb mehr Glyzerin. Auch die oft gemachte Beobachtung, daß Rinder-Tb. weniger säurefest sind, erklärt sich

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle C.

Tuberkulinwirkung von Nährbouillon, auf der menschliche Tuberkelbacillen (Tb. 1) und Rindertuberkelbacillen (Tb. 18) 75 und 89 Tage lang gewachsen waren. Einigen der Kulturen war 16 bezw. 39 Tage nach der Impfung mit Tb. Natronlauge, einigen anderen Natronlauge und Glyzerin zugesetzt worden.

		Prüfung ? Tage nach der Impfung mit Tb.	Zusätze zur Nährbouillon		Menge der auf 40 ccm Nährbouillon gewachsenen Tr. Tb.	Geprüft			Ausfall der Prüfung	Endergebnis
			? Tage nach der Impfung mit Tb.	Zu einer Kultur wurden zugesetzt		an M. No.	Gewicht der M.	auf ? $+ M^{Tb.}$		
I	Tb. 1	75	—	—	0,131 g	583	310 g	200	durch	unter 200 $+ M^{Tb.}$
II	Tb. 18	75	—	—	0,123 „	577	305 „	200	† nach 4 Tagen	fast 200 $+ M^{Tb.}$
III	Tb. 1	75	16	1,6 N/$_{10}$ NaOH	0,136 „	565	400 „	200	† nach 16 Std.	200 $+ M^{Tb.}$
						578	380 „	300	durch	
IV	Tb. 18	75	16	0,8 N/$_{10}$ NaOH	0,137 „	558	410 „	200	† nach 16 Std.	mindestens 200 $+ M^{Tb.}$
						589	350 „	400	durch	
V	Tb. 1	75	39	9 ccm N/$_{10}$ NaOH	0,234 „	581	270 „	200	† nach 16 Std.	fast 400 $+ M^{Tb.}$
						557	370 „	400	† nach 5 Tagen	
						562	325 „	500	durch	
VI	Tb. 18	75	39	6 ccm N/$_{10}$ NaOH	0,257 „	588	295 „	200	† nach 7 Std.	500 $+ M^{Tb.}$
						563	380 „	400	† nach 5 Std.	
						586	350 „	500	† nach 7 Std.	
						585	285 „	600	durch	
VII	Tb. 1	75	39	9 ccm N/$_{10}$ NaOH 0,44 ccm Glyzerin	0,304 „	579	300 „	200	† nach 2 Tagen	400 $+ M^{Tb.}$
						590	385 „	300	† nach 6 Std.	
						560	360 „	400	† nach 16 Std.	
						568	400 „	500	durch	
VIII	Tb. 18	75	39	6 ccm N/$_{10}$ NaOH 0,44 ccm Glyzerin	0,31 „	576	290 „	200	† nach 6½ Std.	mindestens 600 $+ M^{Tb.}$
						555	425 „	400	† nach 6½ Std.	
						569	290 „	600	† nach 14 Std.	
IX	Tb. 1	89	—	—	0,113 „	567	380 „	200	† nach 15 Std.	200 $+ M^{Tb.}$
						575	400 „	300	durch	
X	Tb. 18	89	—	—	0,133 „	572	385 „	200	† nach 7 Std.	mindestens 200 $+ M^{Tb.}$
						552	470 „	400	durch	
XI	Tb. 18	89	39	6 ccm N/$_{10}$ NaOH	0,216 „	566	310 „	200	† nach 6 Std.	fast 400 $+ M^{Tb.}$
						554	450 „	400	† nach 4 Tagen	
XII	Tb. 18	89	39	6 ccm N/$_{10}$ NaOH 0,44 ccm Glyzerin	0,33 „	574	320 „	200	† nach 7 Std.	mindestens 600 $+ M^{Tb.}$
						556	450 „	400	† nach 6½ Std.	
						561	420 „	600	† nach 24 Std.	

vielleicht in derselben Weise, vorausgesetzt, daß die Annahme, daß die Säurefestigkeit durch den Fettgehalt bedingt wird, richtig ist.

IV. Tuberkulinwirkung der Tb.-Filtrate.

Die auf Tabelle C zusammengestellten Ergebnisse der Tuberkulinprüfungen sollen über folgende Fragen Aufschluß geben:

1) Wie verhält sich der Tuberkulinwert einer Nährbouillon zu der Menge der auf ihr gewachsenen Tuberkelbacillen?

2) Welche Unterschiede bestehen in der Toxinbildung der beiden untersuchten Tb.-Stämme?

3) Hat der nachträgliche Zusatz von Glyzerin und Natronlauge einen Einfluß auf die Toxinbildung?

Um aus der Tabelle C zu ersehen, wie sich der Tuberkulinwert der Nährbouillon zu der Menge der auf ihr gewachsenen Tb. verhält, dürfen nur die mit demselben Tb.-Stamm nach gleich langem Wachstum der Tb. gewonnenen Zahlen untereinander verglichen werden. Der Tuberkulinwert der Tb. 1-Bouillon betrug nach 75-tägigem Wachstum der Tb. bei einer Ausbeute von 0,131 g weniger als $200 + M^{\text{Tb.}}$ (C I), bei einer Ausbeute von 0,136 g $200 + M^{\text{Tb.}}$ (C III), bei 0,234 g fast $400 + M^{\text{Tb.}}$ (C V) und bei 0,304 g $400 + M^{\text{Tb.}}$ (C VII). Der Tuberkulinwert der Tb.-18-Bouillon betrug nach 75-tägigem Wachstum der Tb. bei einer Ausbeute von 0,123 g fast $200 + M^{\text{Tb.}}$ (C II), bei 0,137 g mindestens $200 + M^{\text{Tb.}}$ (C IV), bei 0,257 g $500 + M^{\text{Tb.}}$ (C VI), bei 0,31 g mindestens $600 + M^{\text{Tb.}}$ (C VIII). Nach 89-tägigem Wachstum lieferte der Stamm Tb. 18 bei einer Ausbeute 0,133 g Trocken-Tb. ein Filtrat von einem Tuberkulinwert von mindestens $200 + M^{\text{Tb.}}$ (C X), bei einer Ausbeute von 0,216 g wurde ein Wert von fast $400 + M^{\text{Tb.}}$ (C XI), bei 0,33 g ein solcher von mindestens $600 + M^{\text{Tb.}}$ (C XII) festgestellt.

Diese Zahlen bilden eine Bestätigung für die schon früher aus unserem Institut durch Römer (17) gemachte Mitteilung, daß der toxische Wert einer Tb.-Bouillon zunimmt mit der Zunahme der auf ihr gewachsenen Tb.

Zum Vergleich des toxischen Wertes des Tuberkulins aus dem Stamm Tb. 1 und dem Stamm Tb. 18 können nur die Bouillonfiltrate herangezogen werden, die dieselben Zusätze erhalten und auf denen nach derselben Zeit annähernd gleich viel Tuberkelbacillen gewachsen sind.

a) Tb.-1- und Tb.-18-Bouillon ohne nachträgliche Zusätze (C I und II). Die Tb.-1-Bouillon lieferte 75 Tage nach der Impfung mit Tb. 0,131 g Trocken-Tb. und hatte einen Tuberkulinwert von weniger als $200 + M^{\text{Tb.}}$, d. h. ein mit 1,55 ccm des Tb.-1-Filtrates behandeltes, 310 g schweres Meerschweinchen kam durch. Ein ebenso schweres Meerschweinchen, das mit derselben Dosis der Tb.-18-Bouillon, auf der 0,123 g Tb. 18 gewachsen waren, ging 4 Tage nach der Injektion zugrunde. Den Wert dieses Tb.-18-Filtrates habe ich mit „fast“ $200 + M^{\text{Tb.}}$ bezeichnet, weil der Tod des Tieres erst nach 4 Tagen eintrat. Wir betrachten den infolge einer Tuberkulininjektion eintretenden Tod nur dann als typische Tuberkulinvergiftung, wenn derselbe spätestens am zweiten Tage nach der Injektion eintritt.

b) Tb.-1- und Tb.-18-Bouillon, die 16 Tage nach der Impfung mit Tb. einen geringen Zusatz von Natronlauge erhalten hatte (C III und IV). Beide Kulturen gaben dieselbe Ausbeute an Trocken-Tb. Bei der Prüfung der beiden Bouillonfiltrate auf $200 + M^{\text{Tb.}}$ gingen die Tiere nach 16 Stunden zugrunde. Ein mit dem Tb.-1-Filtrat auf $300 + M^{\text{Tb.}}$ geprüftes Meerschweinchen blieb am Leben, der Tuberkulinwert dieses Filtrates beträgt also 200 + MTb. Das Tb.-18-Filtrat wurde leider auf 300 + MTb. nicht geprüft, bei der Prüfung auf 400 + MTb. kam das Tier durch, so daß der Tuberkulinwert dieses Filtrates mindestens 200 + MTb. beträgt.

c) Tb.-1- und Tb.-18-Bouillon, der nach 39-tägigem Wachstum der Tb. Natronlauge zugesetzt worden war (C V und VI). Die Tb.-1-Bouillon ergab 0,234 g Trocken-Tb. Bei der Prüfung auf 400 + MTb. ging das Meerschweinchen nach 5 Tagen zugrunde, bei einer Prüfung auf 500 + MTb. blieb das Tier am Leben. Der Tuberkulinwert wurde danach als fast 400 + MTb. angenommen. Aus der Tb.-18-Kultur wurden 0,257 g Trocken-Tb. gewonnen. Ein mit diesem Filtrat auf 500 + MTb. geprüftes Tier ging nach 7 Stunden zugrunde, ein auf 600 + MTb. geprüftes blieb am Leben, der Tuberkulinwert dieser Tb.-18-Bouillon war also 500 + MTb.

d) Tb.-1- und Tb.-18-Bouillon, der 39 Tage nach der Impfung mit Tb. Natronlauge und Glyzerin zugesetzt worden war (C VII und VIII). Die Tb.-1-Bouillon ergab bei einer Ausbeute von 0,304 g Trocken-Tb. einen Tuberkulinwert von 400 + MTb., die Tb.-18-Bouillon bei einer Ausbeute von 0,31 g Trocken-Tb. einen Tuberkulinwert von mindestens 600 + MTb. Ob der Wert der letzteren Bouillon von 600 + MTb. der Endwert ist, konnte wegen Mangels an geeignetem Tiermaterial nicht festgestellt werden.

Zwischen den Tuberkulinwerten der unter a) und b) aufgeführten Tb.-1- und Tb.-18-Bouillon war kein großer Unterschied vorhanden. Dagegen lassen die unter c) und d) nebeneinandergestellten Prüfungen einen deutlichen Unterschied in dem Sinne erkennen, daß die Tb.-18-Kultur unter den gleichen Vegetationsbedingungen ein stärkeres Tuberkulin erzeugt hat als die Tb.-1-Kultur. Es sei hierbei erwähnt, daß sich die Tb.-18-Kultur in Infektionsversuchen bei den verschiedensten Tierarten stets sehr viel virulenter erwiesen hat als die Tb.-1-Kultur. Auch diese Befunde bilden eine Bestätigung für die von Römer (17) gemachte Beobachtung, daß virulentere Tuberkelbacillen stärkere Tuberkuline erzeugen als weniger virulente.

Der nachträgliche Zusatz von Glyzerin und Natronlauge zur Tb.-Bouillon läßt einen deutlich günstigen Einfluß auf die Toxinbildung erkennen; allerdings wird die Erhöhung des toxischen Wertes wohl nur indirekt durch den Glyzerinlaugezusatz veranlaßt worden sein, indem zunächst durch denselben ausgedehnteres Wachstum der Tb. und erst hierdurch höherer Toxingehalt der Nährbouillon erreicht wurde.

Schlußsätze.

I. Die beiden untersuchten Tb.-Stämme bilden bei ihrem Wachstum auf Glyzerinbouillon Säure.

II. Es besteht kein prinzipieller Unterschied in der Säurebildung zwischen dem untersuchten Tb.-Stamm menschlicher Herkunft und dem untersuchten Rinder-Tb.-Stamm.

III. Bei der Züchtung von Tb. auf Bouillon wird die Ausbeute an Tb. größer, wenn die gebildete Säure durch Natronlauge neutralisiert wird oder wenn der Nährbouillon ein Stück Marmor zugesetzt wird.

IV. Die Tb. verbrauchen bei ihrem Wachstum auf Glyzerinbouillon erhebliche Mengen Glyzerin, so daß man sie als „Glyzerinfresser“ bezeichnen kann.

V. Durch Ergänzen des Glyzerins in der Nährbouillon kann die Ausbeute an Tb. vergrößert werden, wenn gleichzeitig die durch die Tb. gebildete Säure neutralisiert wird.

VI. Werden die Tb. mit der Nährbouillon in Berührung gelassen, nachdem sie das Maximum des Wachstums erreicht haben, so nimmt die Ausbeute an Bacillen ab.

VII. Der Grad der Giftigkeit der Tb.-Bouillon nimmt zu mit der Zunahme der Menge der auf ihr gewachsenen Tb.

VIII. Der untersuchte Rinder-Tb.-Stamm erzeugt ein stärkeres Gift als der untersuchte Tb.-Stamm menschlicher Herkunft.

Literatur.

1) **Madsen**, Handbuch für Technik und Methodik der Immunitätsforschung von **Kraus** und **Levaditi**. Bd. 1. 1907. p. 37.
2) **Shukoff** und **Schestakoff**, Zeitschr. f. angew. Chemie. 1905. p. 294.
3) **Emmerich** und **Löw**, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 31.
4) **Conradi**, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 2.
5) **Malfianto**, La semaine médicale. 1900. No. 34.
6) **Levy**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 33.
7) v. **Behring**, Behringwerk-Mitteilungen. Heft 2. p. 83.
8) **Cremer**, Wien. med. Wochenschr. 1902. p. 944.
9) **Lüthge**, D. Arch. klin. Med. 1904. p. 80, 98.
10) **Bertrand**, Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 133. p. 887—890.
11) **Laurent**, referiert von **Bokorny**. (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1897. p. 337.)
12) **Sander**, Arch. f. Hyg. Bd. 16. 1893.
13) **Lubinski**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 18. 1895.
14) **Miehe**, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 62. 1908.
15) **Proskauer** und **Beck**, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 18.
16) **Schweinitz** und **Dorset**, Journ. Americ. Chem. Soc. 25. p. 354—358.
17) **Römer**, v. **Behrings** Beiträge zur experim. Therapie. Heft 6.

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis des Milzbrandes.

[Aus dem Kgl. Hygienischen Institut der Universität Königsberg Pr.
(damaliger Direktor: Geheimrat Prof. Dr. R. **Pfeiffer**).]

Von Dr. **F. Fischoeder**, Kreistierarzt in Königsberg Pr.

Inhaltsangabe.

Einleitung: Geschichtlicher Ueberblick. Versuchsanordnung.
I. Sporenkeimung und Sporenbildung.
II. Die Milzbrandkapsel.
III. Die milzbrandfeindliche Wirkung des Serums.
  a) Wirkung des Serums auf Milzbrandsporen.
  b) Wirkung des Serums auf kapsellose, sporenfreie Milzbrandstäbchen.
  c) Wirkung des Serums auf Kapselstäbchen.
  d) Die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Kaninchenserums.
IV. Die milzbrandfeindliche Wirkung der Unterhautflüssigkeit des Kaninchens.
V. Die milzbrandfeindliche Wirkung der farblosen Blutzellen des Kaninchens.
VI. Verhalten der Milzbrandkeime im lebenden Kaninchen.
  a) Verhalten der Milzbrandkeime in der Bauchhöhle.
  b) Verhalten der Milzbrandkeime in der Unterhaut.
  c) Verhalten der Milzbrandkeime in der Blutbahn.

Die Tatsache, daß das Blut lebender Tiere in der Regel keimfrei ist, war schon seit längerer Zeit bekannt, als v. **Fodor** im Jahre 1886 große Mengen — bis „zu 2 Millionen" — krankheitserregende Keime in die Blutbahn lebender Tiere einspritzte und feststellen konnte, daß diese Keime in kurzer Zeit, bisweilen schon nach 4 Stunden, aus dem Blute verschwunden waren. Er folgerte daraus, daß das Blut imstande ist, Krankheitskeime in kurzer Zeit zu vernichten. Bestätigt fand er diese Annahme durch seine weitere Beobachtung, daß frisches Blut auch außerhalb der Blutgefäße des Tieres imstande ist, Milzbrandstäbchen zu vernichten. Er schloß daraus, daß demnach dem Blute als solchem eine bedeutende milzbrandabtötende Eigenschaft zukommen müsse. Gleichzeitig und unabhängig von den Versuchen v. Fodors hat auch Wyssokowitsch (101) große Mengen Krankheitskeime Versuchstieren in die Blutbahn gespritzt und dann die Tiere untersucht. Da er aber nach der Tötung der Tiere eine große Anzahl der eingespritzten Keime zwar nicht mehr im Blute, wohl aber in den Organen des Tieres, teils in den Endothelien der Haargefäße, teils in den Gewebszellen der Organe vorgefunden hatte, so folgerte er daraus, daß die Keime durch die Organe abfiltriert und dort durch die Zellen abgetötet werden.

Grundlegende und eingehende Versuche über die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Blutes wurden dann von Nuttall (69) angestellt. Nuttall wies einwandsfrei nach, daß frisches Blut von Kaninchen binnen kurzer Zeit eine große Menge Milzbrandstäbchen zu zerstören imstande ist. Ein Jahr später hat dann Buchner (20) festgestellt, daß nicht nur Blut, sondern auch zellfreies Serum des Kaninchens diese Fähigkeit in hohem Maße besitzt. Buchner hat so den Nachweis erbracht, daß die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Blutes nicht den Körperzellen, sondern den zellenlosen Körpersäften zukommen. In den nächsten Jahren haben sich auch zahlreiche andere Forscher, darunter Buchner (21), Behring (13—15), Nissen (67), Lubarsch (63), Charrin und Roger (23), Bail (3—7), Danysz (27), Flügge (35, 36), Dircknick und Homfeld (30), Christmas (24), Pane (72), Hankin (49), Bitter (17), Verigo (97, 98), Pekelharing (74), Czaplewski (26), Liakhovetzky (60), Conradi (25), Wilde (99), Weil (96), Sanfelice (89), Radziewsky (86, 87), mit dieser ungemein wichtigen Frage beschäftigt und weitere Untersuchungen über das Verhalten der Milzbrandstäbchen zum Blutserum und zu den anderen Körpersäften, zu den Körperzellen und Organen, sowie auch über das Verhalten der Milzbrandstäbchen in lebenden Tieren angestellt.

Aus diesen Untersuchungen konnte aber irgendein Zusammenhang zwischen den milzbrandfeindlichen Eigenschaften der Körpersäfte und der Empfänglichkeit der Tiere nicht nachgewiesen werden. Ebensowenig wurde auch eine Lösung der Frage herbeigeführt, ob die dem Körper in dem Kampfe gegen die Milzbrandkeime zu Gebote stehenden Abwehrkräfte den Zellen — Phagocytose nach Metschnikoff — oder den Körpersäften — Bakteriolyse nach R. Pfeiffer — zukommen.

Inzwischen hatte Serafini (93) an aus frischen Milzbrandtierkörpern stammenden Milzbrandstäbchen das Vorhandensein einer Kapsel festgestellt, und nach einiger Zeit beobachteten Deutsch und Feistmantel (28), daß die den Meerschweinchen in die Bauchhöhle eingeimpften Milzbrandstäbchen sehr bald verschwanden, dann aber nach einigen Stunden andere auftraten, welche eine Kapsel besaßen und der Freßtätigkeit der Zellen widerstanden. Ebenso fand Löhlein (62), daß frische tierische (bekapselte) Milzbrandstäbchen auch im Glase von den Freßzellen nicht aufgenommen werden. Heim (51) stellte dann fest, daß die Milzbrandkapsel aus Schleim besteht, und nahm an, daß ihre

Ausscheidung zur Abwehr gegen die milzbrandfeindlichen Stoffe des Blutserums erfolge.

Die Bedeutung der Kapsel bei der Milzbrandinfektion haben dann **Gruber** und **Futaki** (46, 47) zum Gegenstande eingehender Untersuchungen gemacht, insbesondere auch die Tätigkeit der Freßzellen bei der Milzbrandinfektion eingehend geprüft. Auf Grund ihrer Untersuchungen sind sie zu folgenden Ergebnissen gelangt: Eine sehr wichtige Schutzwehr gegen die allgemeine Infektion des Organismus sind die Phagocyten, die sich auch der virulentesten Milzbrandbacillen zu bemächtigen suchen, sowie sie ins Blut gelangen. Die Leukocyten des Huhnes haben die Fähigkeit, Milzbrandbacillen aufzufressen und zu verdauen, in ganz besonderem Maße, etwas weniger tauglich dazu sind die Phagocyten des Hundes; die Phagocyten des Kaninchens und des Meerschweinchens bringen es nur zur „Umklammerung“ und „Kontakttötung“ der Milzbrandbacillen. Das verschiedene Verhalten der Phagocyten steht in bester Uebereinstimmung mit der verschiedenen Empfänglichkeit der untersuchten Tierspecies.

Das wichtigste Schutzmittel der Milzbrandbacillen gegen die Phagocyten besteht in der Bildung von dicken Hüllen, Kapseln. Die gekapselten Milzbrandzellen sind dadurch gegen die Phagocyten geschützt, daß sie diese nicht mehr zum Fraße anlocken. Eine schädliche Wirkung üben sie auf die Leukocyten nicht aus.

Für den schließlichen Ausgang der Infektion scheint es entscheidend, ob es einem Teil der ins Blut gelangten ungekapselten Milzbrandbacillen gelingt, innerhalb der Blutbahn Kapseln zu bilden, bevor sie von den Leukocyten erreicht werden, bezw. ob die Milzbrandbacillen von vornherein mit Kapseln versehen in die Blutbahn kommen oder nicht. In dem subkutanen Bindegewebe des Meerschweinchens und Kaninchens finden sie einen Nährboden, an dem sich ein guter Teil von ihnen adaptiert, so daß binnen kurzem die Wucherung von Kapselbacillen beginnt, die dann durch den Lymph- und Blutstrom überall hinein verschleppt werden und sich dann in dem Kapillarengebiet ansammeln. Beim Hund und beim Huhn gehen die Milzbrandbacillen im Unterhautzellgewebe zugrunde, bevor sie Zeit hatten Kapseln, zu bilden. Dieses verschiedene Schicksal der Bacillen ist dadurch bedingt, daß die Lymphe im Unterhautzellgewebe des Meerschweinchens und des Kaninchens keine anthrakozide Substanz enthält und nur in geringem Maße die Fähigkeit besitzt, die Leukocyten zur Abgabe der in ihnen enthaltenen milzbrandfeindlichen Substanz zu reizen. Dagegen ist die Lymphe im Unterhautzellgewebe des Huhnes entweder von vornherein anthrakozid oder wird es doch sehr bald infolge des Reizes, den sie auf die ins Zellengewebe einwandernden Leukocyten ausübt und die sie dadurch zu einer fast unerschöpflichen Quelle eines milzbrandfeindlichen Sekrets macht. Die Leukocyten des Kaninchens sind viel ärmer an sezernierbaren, milzbrandfeindlichen Stoffen als die des Hundes. Die milzbrandfeindlichen Stoffe der Leukocyten, die Leukanthrakozidine, scheinen weder beim Huhn noch beim Kaninchen jemals an das Normalblutplasma abgegeben zu werden. Das Plasma des Kaninchens ist überhaupt völlig wirkungslos gegen Milzbrandbacillen. Dagegen enthalten die Blutplättchen des Kaninchens, abweichend von denen des Meerschweinchens und des Huhnes, in reichlicher Menge eine Substanz, welche Milzbrandbacillen energisch tötet. Diese Substanz wird bei der Blutgerinnung von den Blutplättchen abgegeben und macht das Serum des Kaninchens bakterizid. Es ist nicht unmöglich, daß dieser Stoff auch schon im zirkulierenden Blute unter dem Einflusse der Milzbrandinfektion in das Plasma ausgeschieden wird und auf diese Weise eine erhebliche Schutzkraft ausübt. Die Milzbrandstoffe wirken offenbar als Reiz zur Sekretion auf die Plättchen. Dieses Sekret nannten Gruber und Futaki (47) später Plakanthrakozidin. Die Kapsel schützt den Bacillus nach Gruber und Futaki aber auch gegen das Plakanthrakozidin, und die gekapselten Milzbrandbacillen können im Gegensatz zu den ungekapselten die Plättchen zur Abgabe des Plakanthrakozidins nicht veranlassen. Der Milzbrandbacillus, dem es glücklich gelungen ist, eine Kapsel zu bilden, kann sich also in der Blutbahn behaupten und vermehren, unbekümmert um Phagocyten und Plättchen. Ueber Leben und Tod des infizierten Tieres ist entscheidend, ob die eingedrungenen Milzbrandbacillen Zeit finden, Kapseln zu bilden, und ob sie infolgedessen mit Kapseln in die Blutbahn gelangen oder nicht.

Mit der Milzbrandfrage hat sich auch Preisz (81) eine längere Reihe von Jahren beschäftigt, und nach einer vorläufigen Mitteilung im Jahre 1907 (82) hat er die Ergebnisse seiner langjährigen Arbeiten Anfang des Jahres 1909 (84) — nachdem ich meine Untersuchungen bereits abgebrochen hatte — veröffentlicht. Auf Grund seiner Untersuchungen spricht er seine Ueberzeugung dahin aus, daß die Phagocytose bei der Vernichtung des Milzbrandbacillus weder im empfänglichen noch im immunen Tiere eine entscheidende Rolle spielt. Die abgestorbenen Milzbrandkeime rufen bei empfänglichen Tieren eine stärkere Leukocytose hervor als lebende. Die Leukocyten sammeln sich zahlreicher um die tot als um die lebend eingeführten Keime an, obgleich sie im ersteren Falle nichts abzutöten und keine Gefahr abzuwenden haben. Wo die Milzbrandbacillen massenhaft absterben, dort findet eine reichliche Ansammlung der Leukocyten statt, und ob der Milzbrandbacillus an der Impfstelle bald abstirbt oder aber am Leben bleibt, das bestimmt nicht der Grad der Leukocytose, sondern das hängt von anderen Faktoren ab, namentlich von den vorhandenen milzbrandfeindlichen Stoffen. Bei allen Tieren, auch bei den empfänglichsten, befinden sich in den Säften milzbrandfeindliche Stoffe, jedoch in verschiedener Menge und Konzentration. Töten diese Stoffe die in die Gewebe gelangten Keime binnen kurzem ab, so erweist sich das Tier als immun; ist dagegen die anthrakozide Kraft geringer, so bleibt ein mehr oder minder geringer Teil am Leben, erzeugt Kapseln, wird dadurch widerstandsfähiger und ruft allgemeine Infektion hervor. Letzteres geschieht bei empfänglichen Tieren. Die verschiedene Empfänglichkeit der verschiedenen Tiere hängt ursächlich nicht mit dem Grade der Phagocytose zusammen; reichliche Leuko- und Phagocytose ist bereits eine Folgeerscheinung dessen, daß die Keime außerhalb von Zellen zahlreicher abgestorben waren.

Ob der Milzbrand virulent, d. h. tödlich wirkt oder nicht, das wird im gegebenen Falle durch das Resultat bestimmt, das sich aus der Zusammenwirkung der Kapselbildungsenergie des Bacillus, aus der milzbrandfeindlichen Kraft des infizierten Organismus und aus den die Kapselbildung fördernden Stoffen des letzteren ergibt. Auch im empfänglichsten Tiere geht der Milzbrandbacillus zugrunde, wenn er nicht Kapseln zu bilden vermag. Der virulenteste Bacillus stirbt in einem Tierkörper aus, wenn dessen Säfte sein Wachstum stark hemmen oder ihn gar abtöten, noch bevor er Zeit gefunden hätte, in genügender Anzahl Kapseln zu erzeugen. Da die Kapseln den Keimen gegen feindliche Stoffe Schutz gewähren, so bleiben um so mehr Keime lebenskräftig, je mehr Zeit und Gelegenheit sie hatten, Kapseln zu bilden; es lassen sich demzufolge aus der geringen oder größeren Anzahl der bekapselten Keime an der Impfstelle Schlüsse ziehen, wie bedeutend die anthrakoziden Wirkungen des betreffenden Gewebesaftes sind.

Den Kapselstoff hat Preisz von den Stäbchen auch getrennt und gefunden, daß der Zusatz von Kapselstoff zum Serum imstande ist, die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Blutserums im Glase zu vernichten. Es ist ihm jedoch nicht gelungen, diese Wirkung durch Tierversuche zu bestätigen.

Auf Anregung des Herrn Geheimrats R. Pfeiffer habe ich im Herbst 1907 begonnen, im Kgl. Hygienischen Institut der Universität Königsberg über die Milzbrandinfektion und Milzbrandimmunität zu arbeiten. Ich habe mir vorgenommen, das Verhalten der Milzbrandkeime im Blutserum, sowie in anderen Säften und Geweben der verschiedenen Tiere zu prüfen, und zwar zunächst außerhalb des Tierkörpers, dann ihr Verhalten in der Bauchhöhle, in der Unterhaut und in der Blutbahn zu verfolgen, und zwar gesondert und nebeneinander Versuche anzustellen mit kapsellosen Stäbchen, mit Kapselstäbchen und mit Dauerkeimen (Sporen), zunächst mit virulenten Keimen, dann mit abgeschwächten und endlich mit avirulenten Stämmen. Besonders viel versprach ich mir von den Versuchen mit Sporen, einmal weil ich Angaben über eingehende Versuche mit Sporen in der Literatur nicht gefunden habe, und dann, weil die Infektion durch Sporen den natürlichen Verhältnissen am meisten entspricht.

Leider habe ich Anfang März d. J. meine Versuche abbrechen müssen, ohne auch nur annähernd zu dem gesteckten Ziele gelangt zu sein, weil der Direktor des Instituts, Herr Geheimrat Prof. Dr. Pfeiffer, einem Rufe nach Breslau folgend, Königsberg verlassen hatte. Obwohl demnach meine Versuche noch sehr lückenhaft sind, so glaube ich doch, sie vorläufig veröffentlichen zu müssen; ich behalte mir aber vor, über meine weiteren Versuche, die ich im Herbst wieder aufzunehmen gedenke, weitere Mitteilungen zu machen.

An dieser Stelle sei mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Professor Dr. R. Pfeiffer, für die Anregung zu dieser Arbeit, für die freundlichst gestattete Benutzung seines Instituts, sowie für das Interesse, mit welchem er meine Untersuchungen stets begleitet und durch Ratschläge gefördert hat, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen, ebenso dem Herrn Landeshauptmann der Provinz Ostpreußen für die zu dieser Arbeit erforderlichen Geldmittel, die er mir als dem Leiter der Milzbranduntersuchungsstelle im Landeshause gütigst bewilligt hat.

Meine Versuche habe ich mit 5 Stämmen angestellt, die ich mir selbst gezüchtet und durch Verimpfung auf Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen dauernd virulent erhalten habe.

Stamm I. Aus der Milz einer im Oktober an Milzbrand verendeten und 20 Stunden nach dem Tode zerlegten Kuh. $^1/_{10}$ Oese einer 14 Stunden alten Bouillonkultur, 50 Keime enthaltend, tötete am 16. März 1909 eine 20 g schwere Maus in 40 Stunden.

Stamm II. Aus der zum Zwecke von Schutzimpfungen gegen Milzbrand nach Sobernheim von Merck-Halle bezogenen Milzbrandkultur. 0,01 ccm dieser Kultur tötete am 15. Dez. 1907, 2 Tage nach ihrer Ankunft aus Halle, eine Maus in 4 Tagen, ein Meerschweinchen in 6 Tagen, ein Kaninchen in 7 Tagen, und am 16. März $^1/_{10}$ Oese einer 14 Stunden alten Bouillonkultur, 65 Keime enthaltend, eine 14 g schwere Maus in 24 Stunden.

Stamm III. Aus dem Halsvenenblute einer an Milzbrand verendeten und 30 Stunden nach dem Tode zerlegten Kuh. $^1/_{10}$ Oese einer 14 Stunden alten Bouillonkultur, 42 Keime enthaltend, tötete am 16. März 1909 eine 20 g schwere Maus in 40 Stunden.

Stamm IV. Aus dem Herzblute einer an Milzbrand verendeten und 8 Stunden nach dem Tode zerlegten Kuh. $^1/_{10}$ Oese einer 14 Stunden alten Bouillonkultur, 62 Keime enthaltend, tötete am 16. März 1909 eine 18,5 g schwere Maus in 30 Stunden.

Stamm V. Aus der Halslymphdrüse eines an Milzbrand verendeten und 8 Stunden nach dem Tode zerlegten Schweines. $^1/_{10}$ Oese einer 14 Stunden alten Bouillonkultur, 75 Keime enthaltend, tötete am 16. März 1909 eine 14 g schwere Maus in 24 Stunden.

Das Serum zu meinen Versuchen verschaffte ich mir von Kaninchen und Meerschweinchen durch Entblutenlassen dieser Tiere. Von den Schlachttieren habe ich das Blut persönlich von durch Bruststich, nicht durch Halsschnitt, geschlachteten Tieren auf dem hiesigen Schlachthofe in keimfrei gemachten Gläsern aufgefangen und möglichst bald nach der Gerinnung, in der Regel schon eine Stunde nach dem Tode der Tiere, ausgeschleudert. Das Serum wurde dann bei 7° C im Eisschrank aufbewahrt.

Die Versuche im Glase machte ich in gewöhnlichen Glasröhren (Reagensgläsern) bei 37° C, und zwar stets mit 2,0 ccm Flüssigkeit. Die Versuchsflüssigkeit wurde in jedem Falle auf 37° C vorgewärmt, und dann erst wurden die Keime eingesät. Die Anzahl der eingesäten Keime habe ich in der Weise festgestellt, daß ich eine gleiche Menge der Aufschwemmung in 2,0 ccm Bouillon einsäte, nach gründlicher Durchmischung sofort mit 10,0 ccm Agar Platten anlegte und dann die aufgegangenen Keime zählte.

Aus den im Wasserbade von 37° C stehenden Versuchsröhrchen habe ich in bestimmten Zeitabschnitten 0,1 ccm der Flüssigkeit nach jedesmaligem gründlichen Durchmischen auf eine Platte ausgegossen und dann die aufgegangenen Keime gezählt. Bei zweifelhaften Ergebnissen wurde die Platte nicht 24, sondern 48—72 Stunden im Brutschrank belassen. Leider war es mir nicht möglich, die Probeentnahme jedesmal nach denselben, ganz bestimmten Zeitabschnitten zu entnehmen, weil ich diese Versuche neben meiner amtlichen Tätigkeit ausführte und nicht immer die erforderliche Zeit zu den beabsichtigten und vorbereiteten Versuchen finden konnte.

Die Ergebnisse der Versuche mit Serum kontrollierte ich in jedem Falle durch Kontrollversuche mit 2,0 ccm Bouillon und in den meisten Fällen auch mit 2,0 ccm inaktivierten Serums. Außerdem verfolgte ich die Veränderungen an den Keimen durch Untersuchungen im hängenden Tropfen und in gefärbten Ausstrichen.

Trotz alledem ist nicht zu verkennen, daß dem Plattenverfahren eine große Menge von Fehlern anhaften. Einmal ist es kaum möglich, die Keime durch einfaches Schütteln so gleichmäßig in 2,0 ccm Flüssigkeit zu verteilen, daß man bei der Entnahme einer Menge von 0,1 ccm auch stets die Durchschnittszahl der vorhandenen Keime erhält, so daß daher,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

um die richtige Anzahl der tatsächlich noch lebensfähigen Keime festzustellen, die ganzen 2,0 ccm und nicht jedesmal nur 0,1 ccm zu den Platten hätten verwandt werden müssen. Ferner ist die Hauptfehlerquelle darin zu suchen, daß die Milzbrandstäbchen in Fäden wachsen und daß es in den meisten Fällen rein vom Zufall abhängt, ob man in 0,1 ccm wenige lange Fäden oder zahlreiche einzelne Glieder auffängt; demnach müssen die zu derselben Zeit und aus demselben Röhrchen angelegten Platten eine verschiedene Anzahl von Keimen ergeben; ein Einwand, von dessen Berechtigung ich mich wiederholt überzeugt habe. Um diese Fehlerquelle zu beseitigen, habe ich versucht, die langen Fäden durch stundenlanges Schütteln mit Perlen im Schüttelapparat zu zerkleinern, habe aber gefunden, daß ich wesentliche Vorteile dadurch nicht erreichen konnte. Die beste Verteilung und Zergliederung der langen Fäden habe ich noch dadurch erreichen können, daß ich die Keime in Kochsalz mit der Platinöse sehr sorgfältig und möglichst fein verrieb. Ein weiterer Einwand gegen mein Verfahren könnte dahin geltend gemacht werden, daß die Keime nach ihrem Verbringen in das Serum zusammengeballt werden, und daß daher die Anzahl der auf den Platten aufgegangenen Keime die Anzahl der tatsächlich noch lebenden Keime bei weitem nicht erreicht. Daß aber der Verklumpung eine wesentliche Rolle bei meinen Versuchen nicht zukommt, dafür spricht der Umstand, daß bei den Kontrollversuchen mit inaktiviertem Serum die Anzahl der eingesäten Keime sich nicht verringerte, und daß bei der Beobachtung mit bloßem Auge und im hängenden Tropfen eine Zusammenballung der Keime nicht zu bemerken war. Auch aus anderen Gründen, auf die ich noch später zurückkommen werde, kann der Agglutination bei meinen Versuchen eine größere Bedeutung nicht beigemessen werden. Die größte Fehlerquelle liegt aber wohl darin, daß von den Milzbrandkeimen, wie ich es unzählige Male beobachten konnte, beim Wechsel des Nährbodens immer eine gewisse Menge zugrunde geht, nicht nur dann, wenn sie in einen für sie ungünstigeren, sondern auch, wenn sie in einen für sie außerordentlich günstigen Nährboden, wie z. B. in Bouillon, gebracht werden. Hierbei muß jedoch berücksichtigt werden, daß in Nährböden, welche dem Wachstum der Milzbrandkeime günstig sind, sofort nach der Einsaat auch eine Vermehrung der Keime einsetzt, und daß man an der Anzahl der in kurzen Zwischenräumen nach der Einsaat auf Platten aufgegangenen Keime erkennen kann, ob der Nährboden das Wachstum der Milzbrandkeime fördert oder hemmt, oder die Keime zerstört. So bleibt etwa 10—15 Minuten nach der Einsaat in Bouillon die Anzahl der Keime gleich, und eine Vermehrung kann man erst nach dieser Zeit durch das Plattenverfahren feststellen, obwohl man sich durch mikroskopische Untersuchung überzeugen kann, daß zahlreiche Keime sofort nach der Einsaat zugrunde gehen.

Im Laufe der Zeit habe ich mich überzeugt, daß die Fehlerquellen, die dem Platten- und Zählverfahren anhaften, für die Beurteilung der Wirksamkeit des Serums nicht von so großer Bedeutung sind, wie von vornherein anzunehmen war. Die Unterschiede in der Anzahl der auf den Platten aufgehenden Keime aus milzbrandgünstigen und milzbrandfeindlichen Versuchsflüssigkeiten sind in der Regel so grob und so sinnfällig, daß man aus zahlreichen Versuchen, wenn sie immer dasselbe Ergebnis haben, zu ganz bestimmten Schlüssen wohl berechtigt ist, zumal wenn man, wie es hier stets geschehen ist, nebenher noch Kontrollversuche mit Bouillon und inaktiviertem Serum macht, und wenn außerdem noch die Ergebnisse des Plattenverfahrens den mikroskopisch festgestellten Veränderungen an den eingesäten Keimen entsprechen.

Da aber nach alledem bei meiner Versuchsanordnung eine genaue Feststellung der Anzahl der in den Versuchsröhrchen tatsächlich noch lebenden Milzbrandkeime nicht möglich ist, so konnte es auch auf eine ganz genaue Auszählung der aufgegangenen Keime nicht ankommen, sondern es mußte vielmehr das Gesamtbild der wiederholten Versuche zur Beurteilung der Frage genügen. Ich habe daher auch bei meinen Zählungen die großen Zahlen nur annähernd bestimmt und abgerundet. Nur die kleineren Zahlen habe ich, oft erst nach 72 Stunden langem Stehenlassen der Platten im Brutschrank, genau festgestellt, weil erst die späteren kleineren Zahlen für die Beurteilung der völligen Abtötung der Keime ausschlaggebend sind. Daß die Ergebnisse meiner mit dem Plattenverfahren angestellten Versuche den tatsächlichen Verhältnissen auch wirklich entsprochen haben, geht daraus hervor, daß sie im besten Einklange mit den Ergebnissen meiner mikroskopischen Untersuchungen standen. Diese habe ich im hängenden Tropfen und in gefärbten Ausstrichen ausgeführt. In den meisten Fällen habe ich die Proben zur mikroskopischen Untersuchung aus demselben Röhrchen entnommen wie zu den Platten. Bei kleineren Einsaaten oder bei stark abtötenden Versuchsflüssigkeiten habe ich jedoch besondere Nebenröhrchen unter denselben Verhältnissen aufgestellt, denen ich eine bedeutend größere Anzahl von Keimen zugesetzt hatte, um zu jeder Zeit noch nicht abgestorbene Keime zu haben und in jedem Falle die Veränderungen an einer größeren Anzahl von Keimen verfolgen zu können. Die Untersuchungen im hängenden Tropfen habe ich ebenfalls bei 37° C in dem nach Nuttall hergestellten Brutschrank vorgenommen. Bei der Herstellung der vorher in Methylalkohol gehärteten, gefärbten Ausstriche habe ich mich sämtlicher bis dahin für Milzbrandstäbchen empfohlenen Färbevorschriften bedient, von Johne (53), Klett (59), Olt (70), Lüpke (64), Preusse (80) und Räbiger (85). Außerdem habe ich aber auch Kristallviolett angewandt, weil ich zufällig beobachtet habe, daß dieser Farbstoff auch bei Milzbrand ganz ausgezeichnete Bilder lieferte, aber nur in ganz verdünnten Lösungen (1:20—40), entweder schwach angewärmt oder bei Zimmerwärme nach 20—30 Minuten langer Einwirkung des Farbstoffes. Diese Färbung habe ich besonders dort angewandt, wo es sich nicht nur um das Verhalten der zerfallenden Milzbrandkeime, sondern auch um Körperzellen handelte. Hierbei habe ich ebenso brauchbare Ausstriche erhalten, wie bei der von mir ebenfalls angewandten Färbung nach Giemsa. Gewebeschnitte habe ich in der Regel nach Gram gefärbt und zur Färbung der Sporen auch Kochen in Karbolfuchsin angewandt. Am zweckmäßigsten habe ich gefunden: für auskeimende Sporen, für in der Neubildung begriffene Kapseln und für im Zerfall befindliche Stäbchen die Vorschrift nach Klett, für ältere und im Zerfall begriffene Kapseln, sowie für im Absterben befindliche Kapselstäbchen die Färbung mit Kristallviolett, und schließlich zur Darstellung der Beziehungen zwischen den Milzbrandstäbchen und den Körperzellen die Färbung mit Kristallviolett oder nach Giemsa. Ganz unbrauchbar erwies sich die Färbung nach Olt, weil bei dieser Färbung der Leib des Stäbchens stets einen zerfallenen und bröckligen Eindruck macht. Da aber die Kapselfärbung in den einzelnen Ausstrichen, obwohl unter denselben Bedingungen angefertigt, nicht immer in gleicher Weise so gelingt, wie es für meine Versuche durchaus notwendig war, so habe ich in jedem Falle nicht nur verschiedene Färbevorschriften angewandt, sondern gleichzeitig auch eine größere Anzahl von Ausstrichen angefertigt und gefärbt, um so beim Vergleich der einzelnen Ausstriche das Richtige erkennen zu können. Die gefärbten Ausstriche habe ich auch nicht gleich eingebettet, sondern erst in Wasser untersucht, weil die Kapsel, wie auch Kern, Buch, Olt und Preisz betonen, in Wasser viel besser zu erkennen ist als in Kanadabalsam. Auf die Einzelheiten werde ich bei der Besprechung der einzelnen Versuche noch zurückkommen.

Wie es nicht anders zu erwarten war, habe ich bei meinen Versuchen auch verschiedene Beobachtungen bezüglich der äußeren Formenverhältnisse der Stäbchen, der Kapselbildung, der Sporenbildung und der Sporenkeimung gemacht, welche mit den Angaben der mir zugänglichen Literatur nicht ganz im Einklange standen. Ich habe daher auch diese Verhältnisse zum Gegenstande meiner Untersuchungen gemacht, und muß, bevor ich auf meine Hauptversuche eingehe, auf die äußeren Formverhältnisse, sowie auf den Entwickelungsgang des Milzbranderregers etwas näher eingehen.

I. Sporenkeimung und Sporenbildung.

Meine Versuche wollte ich, wie bereits erwähnt, mit sporenfreien kapsellosen Stäbchen, mit Kapselstäbchen und mit Sporen gesondert anstellen, bin aber von vornherein insofern auf große Schwierigkeiten gestoßen, als es mir nicht gelingen wollte, die genannten drei Formen des Milzbranderregers ganz rein darzustellen. Auf die Kapselbildung komme ich später zurück. Hier will ich nur die Sporen besprechen.

Reine Sporen habe ich mir in der Weise dargestellt, daß ich möglichst alte Schrägagarkulturen in Kochsalz verrieb, drei Minuten lang im Wasserbade auf 80° C erwärmte und dann die Aufschwemmung sofort abkühlte. Bei meinen weiteren Versuchen fand ich aber, daß solche Sporen nach 10 Minuten langem Verweilen in Bouillon oder im Serum bei 37° C einer nochmaligen Erwärmung auf 80° C nicht widerstanden, sondern abgetötet wurden. In Kochsalz vertrugen sie dagegen eine gleiche Behandlung fast ohne Schaden. Dies veranlaßte mich, zunächst auf die Sporenkeimung näher einzugehen, weil ich vermutete, daß das verschiedene Verhalten der Sporen in den genannten Flüssigkeiten mit der Sporenkeimung in Zusammenhang stehen müsse. Auch auf die Sporenbildung habe ich näher eingehen müssen, weil es mir anfangs nicht gelingen wollte, die zu meinen Versuchen notwendigen sporenfreien Stäbchen zu züchten.

Die Literaturangaben über die Zeit, in welcher Milzbrandsporen auskeimen, und innerhalb welcher eine Neubildung von Sporen erfolgt, gehen sehr weit auseinander. Nach Koch (58) können die Dauerformen des Milzbrandes hohe Hitzegrade und auch andere schädlichen Einflüsse, die die Milzbrandstäbchen in kurzer Zeit vernichten, ohne wesentliche Schädigung vertragen. Sie keimen bei 35—40° C in 3 bis 4 Stunden aus. Nach de Bary (11) verliert die Spore den Glanz, wird größer und verquillt. Aus diesen verquollenen Sporen quillt nach Prazmowsky (79) bei 37° C, in einer bis wenigen Stunden durch ein polares Loch das neue Stäbchen aus, das die Sporenhaut abwirft. Schreiber (91) gibt die Zeit der Sporenkeimung bei 30° C auf 4 Stunden an, und nach Grethe (45) vollzieht sich die Sporenkeimung schon bei $^3/_4$—$1^1/_2$ Stunden. Nakanishi (66) macht darauf

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

aufmerksam, daß in Sporenkulturen neben ovalen nicht färbbaren Sporen rundliche, größere Sporen mit färbbarem Kern und blaß gefärbtem Protoplasma vorkommen, die er für im Auskeimen begriffene Sporen hält, und die er stets freiliegend angetroffen hat. Daneben fand Nakanishi aber auch andere Sporen, die nicht frei, sondern in kurzen Zellen lagen. Diese Sporen sollen sehr früh reif werden und auch sehr früh auskeimen, und zwar seitlich; wann die Auskeimung beginnt, und wann sie beendet ist, gibt Nakanishi nicht an. Sehr eingehend mit der Sporenkeimung in Bouillon hat sich Preisz (81) beschäftigt. Nach ihm sind die Sporen in 1 Stunde in der Auskeimung begriffen. Mit Methylenblau gefärbt, erscheint die Spore dann glanzlos, gequollen, die Hülle undeutlich oder gar nicht sichtbar; neben ovalen Formen treten auch schon länglich plumpe Formen auf, die eine dunkelgefärbte Rindenschicht und ein helles Innere besitzen. Im letztgenannten liegt ein dunkelgefärbtes Körperchen, rundlich oder schon stäbchenförmig, zuweilen schon mit einer Einschnürung versehen. Gegen Ende der zweiten Stunde finden sich neben unveränderten Sporen bereits mehrzellige Keimlinge. In der zweiten bis dritten Stunde tritt der Keimling aus; das eine Ende des längeren Keimlings steckt oft noch halb in der Sporenhaut. Wo die Zelle durch die Oeffnung der Sporenhaut tritt, ist sie manchmal eingeschnürt, oder es sitzt jedem Ende des Keimlings die Sporenhaut als Kappe auf. Die Keimlinge nehmen in den ersten Stunden den Farbstoff gierig auf, daher dürfen bei der Untersuchung nur schwache Lösungen verwandt werden.

Während die bisher genannten Forscher die Sporenkeimung nur mikroskopisch verfolgt haben, versuchte Weil (96) die Sporenkeimung in der Weise zu erforschen, daß er eine Minute lang auf 80° C erwärmte Sporen in Bouillon einsäte und dann in bestimmten Zeitabschnitten nach nochmaliger Erwärmung auf 80° C Agarplatten anlegte. Dabei fand er bei einem Versuche, daß nach $1^{1}/_{2}$ Stunden von 11 750 Keimen nur 2 Keime übrig geblieben waren. Von 8 600 Keimen waren ein andermal noch am Leben:

Nach	10	Minuten	60	Keime
„	20	„	67	„
„	30	„	28	„
„	40	„	13	„
„	50	„	12	„
„	1	Stunde	21	„

Bei Versuchen in Kaninchenserum waren von 2660 eingesäten Keimen noch lebensfähig:

Nach	$^{1}/_{2}$	Stunde	2650	Keime
„	1	„	2480	„
„	2	„	1880	„
„	$3^{1}/_{2}$	„	824	„
„	5	„	280	„
„	$6^{1}/_{2}$	„	420	„
„	$7^{1}/_{2}$	„	2640	„
„	$8^{1}/_{2}$	„	7432	„

Daß aber in 10 Minuten schon über 8000 Sporen auskeimen und in $1^{1}/_{2}$ Stunden von 11 750 nur 2 nicht ausgekeimte Sporen übrig bleiben sollten, erschien ihm sehr unwahrscheinlich, und er nahm daher an, daß dieses Ergebnis auf eine Schädigung der Sporen durch das zweite Erwärmen auf 80° C zurückzuführen sei. Er versuchte deshalb nicht durch

Erwärmen, sondern durch chemische Mittel die Wuchsformen abzutöten, und gelangte zu dem Schlusse, daß alle diese Wege zur Bestimmung des Beginns der Sporenkeimung nicht brauchbar seien, sondern daß man die plötzliche Vermehrung der Keime als den Zeitpunkt der Auskeimung der Milzbrandsporen ansehen müsse. Diese Zeit setzte er auf etwa 6 Stunden nach der Einsaat der Sporen fest.

Nicht ganz so widersprechend sind die Angaben der Literatur über die Bildung von Sporen. Auf die Frage, welche Bedingungen die Sporenbildung beim Milzbrand begünstigen, will ich hier nicht näher eingehen, weil mich für die Beurteilung meiner Versuche nur die Sporenbildung bei 37° C bezw. bei Zimmerwärme in verschiedenen Flüssigkeiten und unter sonst gleichen Bedingungen interessierte. Nach R. **Koch** (58) ist die Sporenbildung der Milzbrandstäbchen bei 30—40° C in 24 Stunden vollendet. Bei 21° C tritt sie erst nach 60—72 Stunden ein. **Weil**, der auch diese Frage mit Hilfe des Plattenverfahrens geprüft hat, gibt den Zeitpunkt der Sporenbildung bei 31—36° C auf etwa 16 Stunden, bei 24° C auf etwa 36 Stunden und bei 18° C auf etwa 50 Stunden an. Auf in Bouillon getränkten Gipsstäbchen haben **Jacobsthal** und **Pfersdorff** (56) wenn sie, um jede auch nur die geringste Abkühlung zu vermeiden, die Gipsblöcke im Brutschrank dauernd bei 37° C beließen, schon nach 6—8 Stunden, bei 22° C nach 22 Stunden und bei 16° C nach 62 Stunden Sporenbildung beobachtet. Die ersten Anzeichen der Sporenbildung bei 37° C hat **Preisz** (81) nach 6 Stunden gesehen. Es treten um diese Zeit zunächst sogenannte „Vorsporen“ auf, deren Zentrum und äußerste Schicht sich stärker färben als der übrige Inhalt. Aus diesen Vorsporen bilden sich dann die fertigen Sporen, und zwar aus einem ovalen Körper, der sich im Zentrum der Spore entwickelt. Die Färbbarkeit des Körpers verliert sich immer mehr, die Spore wird durchsichtig, glänzend, dann gelblich oder bräunlich, der Hof wird zur Membran der Spore. Sporenanlagen und Vorsporen werden durch Karbolmethylenblau dunkelblau gefärbt.

Ich habe zunächst festzustellen versucht, ob und wie weit eine Erwärmung auf 80° C die Milzbrandsporen abzutöten oder zu schädigen vermag. Zu diesem Zwecke habe ich in zwei verschiedenen Röhrchen je 2,0 ccm einer aus etwa 8 Tage alten Schrägagarkulturen hergestellte Sporenaufschwemmung gebracht und nach Feststellung der Anzahl der in jedem Röhrchen vorhandenen Keime, die eine von den Röhrchen unter häufigem Umschütteln 3 Minuten lang im Wasserbade auf 80° C erwärmt und dann sofort abgekühlt, die andere dagegen ohne Erwärmen bei Zimmerwärme belassen und nach etwa 10—20 Minuten aus jedem der beiden Röhrchen mit 0,1 ccm der Aufschwemmungen je eine Agarplatte angelegt. Auf der aus dem kühl gehaltenen Röhrchen angelegten Platte gingen 6000 Keime auf, auf der aus der erwärmten Aufschwemmung stammenden dagegen nur 450 Keime. Bei häufigen Wiederholungen dieses Versuches war das Ergebnis fast immer das gleiche, im erwärmten Röhrchen waren fast immer $^1/_5$—$^1/_3$ Keime weniger als in dem nicht erwärmten. Es mußten demnach durch die Erwärmung auf 80° C eine Menge Keime zerstört worden sein. Diese Annahme schien ohne weiteres dadurch erklärlich, daß auch in alten Milzbrandkulturen neben Dauerformen stets noch Wuchsformen sich vorfinden, die durch die Erwärmung der Vernichtung anheimfallen mußten. Die Untersuchung mikroskopischer Ausstriche ergab jedoch, daß in alten Schrägagarkulturen die vorhandenen Stäbchen bei weitem nicht so zahlreich waren, wie die Anzahl der durch

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Erhitzen auf 80° C vernichteten Keime. Dahingegen bemerkte ich, daß die Sporen in den mit wässerigem Methylenblau gefärbten Ausstrichen durchaus nicht sämtlich hell glänzend und ungefärbt waren, sondern daß daneben stets eine beträchtliche Anzahl mehr oder weniger stark gefärbter Sporen sich befand. Die gefärbten Sporen waren meist größer und in der Regel von mehr rundlicher Gestalt. Die Anzahl der letztgenannten Gebilde stimmte auch mit der Anzahl der durch Erwärmen auf 80° C vernichteten Keime annähernd überein, denn in Kulturen, in denen nach dem Erhitzen $^1/_5$—$^1/_3$ Keime weniger aufgegangen waren, kam auch beim Durchzählen in einem Gesichtsfelde auf etwa 3—5 ungefärbte Sporen eine gefärbte. Aus diesen Versuchen mußte gefolgert werden, daß beim Erhitzen auf 80° C stets eine beträchtliche Anzahl von Sporen zugrunde geht, daß aber die weit größte Mehrzahl der Sporen diese Behandlung ohne Schädigung vertragen kann. Ferner war anzunehmen, daß diejenigen Sporen die Erwärmung nicht vertragen, welche die Methylenfärbung annehmen, nicht nur, weil ihre Anzahl der Anzahl der durch die Erwärmung vernichteten Keime mehr oder weniger entsprach, sondern auch weil in Ausstrichen, die aus den auf 80° C erwärmten Kulturen angefertigt wurden, gefärbte Sporen zwar sich noch befanden, aber nicht mehr so stark blaugefärbt erschienen, sondern nur schattenhaft bläulich und etwas gekörnt, ein Beweis dafür, daß das Gewebe dieser Sporen abgestorben war. Ob es sich bei diesen Sporen um Sporenanlagen (Vorsporen nach Preisz) oder um in der Auskeimung begriffene Sporen (nach Nakanishi) handelt, die nach den Angaben dieser beiden Forscher sich sehr leicht mit Methylenblau färben, habe ich nicht weiter verfolgt, weil diese Frage für meine Versuche kein weiteres Interesse hatte. Aus meinen weiteren Versuchen, auf die ich später zurückkommen werde, möchte ich jedoch annehmen, daß es sich in der Hauptsache um Sporen handelt, die auf einem bestimmten Grade der Sporenkeimung stehen geblieben sind, und wohl nicht um „Vorsporen“. Dahingegen habe ich die Frage weiter prüfen zu müssen geglaubt, ob eine Erhitzung auf 80° C überhaupt eine Schädigung der gewöhnlichen, stark lichtbrechend erscheinenden Milzbrandsporen hervorruft oder nicht. Zunächst habe ich zu diesem Zwecke vergleichende Versuche angestellt mit Erwärmung auf 65° C und auf 80° C, und gesehen, daß ein wesentlicher Unterschied nicht besteht, ob man die Sporen 3 Minuten auf 80° C oder 10—15 Min. auf 65° erwärmt, denn die Anzahl der auf den beiden Versuchsplatten aufgegangenen Keime war in beiden Fällen annähernd gleich.

Des weiteren müßte auch auf folgenden Umstand Rücksicht genommen werden: Zu meinen Versuchen wollte ich nur widerstandsfähige Sporen verwenden ohne Beimischung der weniger widerstandsfähigen, noch nicht fertigen oder bereits in der Auskeimung begriffenen Sporen, und ohne Stäbchen. Um dies zu erreichen, mußte ich die zu verwendende Aufschwemmung stets vorher auf 80° C erwärmen. Da ich aber bei der weiteren Verwendung dieser Sporen zur Feststellung der noch unverändert gebliebenen Sporen eine abermalige Erwärmung auf 80° C anwenden mußte, so war es nötig, zunächst zu prüfen, ob die bereits einmal auf 80° erwärmten Sporen durch eine nochmalige Erwärmung geschädigt oder gar vernichtet werden. Zu diesem Zwecke erwärmte ich eine Sporenaufschwemmung in Kochsalz 3 Minuten lang auf 80° C, kühlte sie sofort ab, verteilte sie auf 2 Röhrchen und erwärmte eines der Röhrchen nach 15—30 Minuten noch einmal 3 Minuten auf 80° C, während ich das andere Röhrchen ohne nochmalige Erwärmung bei Zimmerwärme stehen ließ. Aber auch bei diesen Versuchen konnte ein wesentlicher Unterschied in der Anzahl der auf den beiden angelegten Platten aufgegangenen Keime nicht festgestellt werden, ebensowenig in solchen Fällen, in denen ich von zwei gleichen Sporenaufschwemmungen die eine zweimal 3 Minuten lang und die andere einmal 6 Minuten lang auf 80° C erwärmte. Diese Ergebnisse konnten nicht überraschen, denn nach den Untersuchungen von R. Koch können Sporen, die unter günstigen Bedingungen sich gebildet und ihre größte Widerstandsfähigkeit erlangt haben, 12 Minuten hindurch einen Hitzegrad von 90° C ohne wesentliche Schädigung ertragen. Es kam nun noch darauf an festzustellen, ob zweimal auf 80° C erwärmte Sporen ganz oder teilweise ihre Virulenz einbüßen. Dieses ist jedoch nicht der Fall, wie ich durch Verimpfung gleicher Mengen erhitzter und nicht erhitzter Sporen an Mäuse feststellen konnte. 30—50 erhitzte Sporen töteten Mäuse in 24—36 Stunden, genau ebenso wie nicht erhitzte. Auch die aus erhitzten Sporen ausgekeimten Stäbchen waren ebenso virulent, wie die aus nicht erhitzten Sporen ausgekeimten Stäbchen. Denn $^1/_{10}$ Oese einer 14-stündigen, aus erhitzten Sporen ausgekeimten Bouillonkultur, 42—75 Keime enthaltend, tötete bei 5 Versuchen, die ich zu diesem Zwecke anstellte, weiße Mäuse innerhalb 24 bis 40 Stunden.

Endlich mußte noch eine weitere Frage aufgeklärt werden. Bei meinen Sporenversuchen war es sehr umständlich, die aus dem Röhrchen entnommene Probe von 0,1 ccm zunächst in Kochsalz zu erwärmen und dann in flüssigen Agar zu gießen, um sie dann zu Platten zu verwenden. Es schien einfacher zu sein, die entnommene Probe von 0,1 ccm gleich in zwei Röhrchen flüssigen Agars zu tun und dann das eine Röhrchen sofort, das andere dagegen erst nach 3 Minuten langer Erwärmung auf 80° C zur Platte auszugießen. Hiergegen hätte aber der Einwand erhoben werden können, daß vielleicht Agar von 80° C die Sporen im Gegensatz zu Kochsalzlösung schädigen könnte. Um diesen Einwand zu beseitigen, erwärmte ich gleiche Mengen von Sporen in Kochsalz und flüssigem Agar 3 bezw. 6 Minuten auf 80° C und konnte an der Anzahl der auf den Agarplatten aufgegangenen Keime feststellen, daß es gleichgültig ist, ob die Erwärmung in Agar oder auch in Kochsalzlösung vorgenommen wird, denn die Anzahl der aufgegangenen Keime war bei meinen zahlreichen Versuchen auf beiden Platten annähernd gleich.

Nach Erledigung aller dieser Vorarbeiten ordnete ich meine Versuche über die Sporenkeimung und Sporenbildung in folgender Weise an: Ich stellte mir durch Verreiben mehrere Tage oder Wochen alter bei 37° C gewachsener Schrägagarkulturen eine Kochsalzaufschwemmung dar, die ich 3 Minuten auf 80° C erwärmte und sofort abkühlte. Dann verteilte ich die Aufschwemmung in zwei Röhrchen, von denen ich das eine mit a und das andere mit b bezeichnete. Die Aufschwemmung a wurde dann noch einmal auf 80° C erwärmt und sofort abgekühlt. Inzwischen habe ich mir von verschiedenen Flüssigkeiten, Kochsalz, Bouillon, Serum u. dgl., je 2,0 ccm in je zwei Röhrchen, von denen das eine ebenfalls mit a und das andere mit b bezeichnet war, im Wasserbade auf 37° C vorgewärmt und nun von der Aufschwemmung a in das Versuchsröhrchen a und von der Aufschwemmung b in das Versuchsröhrchen b eine bestimmte Menge, deren Gehalt an Keimen ich durch das Plattenverfahren vorher genau bestimmt hatte, zugesetzt. In bestimmten Zeitabschnitten habe ich dann aus jedem Versuchsröhrchen 0,1 ccm entnommen und zu je einer

Agarplatte ausgegossen, und zwar aus dem Versuchsröhrchen a ohne weiteres, aus dem Versuchsröhrchen b dagegen erst nach 3 Minuten langem Erwärmen auf 80° C. In den Platten a hatte ich demnach die Anzahl sämtlicher in der Probe befindlichen Milzbrandkeime, der veränderten sowohl wie der noch nicht veränderten Sporen und der neugebildeten Stäbchen und Sporen, während in der Platte b nur diejenigen Dauerkeime aufgehen konnten, die noch nicht ausgekeimt waren, oder die ihre Widerstandsfähigkeit noch nicht verloren hatten, und endlich diejenigen, die sich inzwischen aus den ausgekeimten Stäbchen frisch entwickelt hatten, also auch neugebildete Sporen. Die Ergebnisse dieser Versuche habe ich in der Zusammenstellung No. 1 aufgestellt:

Aus den Spalten a ist die Anzahl der in 0,1 ccm der einzelnen Versuchsflüssigkeiten überhaupt enthaltenen Keime, und aus der Spalte b die Anzahl der widerstandsfähigen Sporen zu ersehen, auf die es hier in erster Linie ankommt. Die Schwankungen der Zahlen in den Spalten a sind zum Teil auf die bereits erwähnte Vernichtung der Keime infolge der Uebertragung auf andere Nährböden, zum Teil auf die Wirkung des Serums zurückzuführen. Auf diese Verhältnisse komme ich in einem späteren Abschnitte zurück.

Bevor ich zur Besprechung der Sporenkeimung übergehe, muß ich jedoch noch einen Umstand erwähnen. Bei der Durchsicht der Spalten a und b fällt es auf, daß schon nach ganz kurzer Zeit (10 Minuten) auch auf den ohne nochmalige Erwärmung auf 80° C aus dem Serum verschiedener Tiere angelegten Platten die Anzahl der vorgefundenen Keime im Verhältnis zur Einsaat sehr gering ist. Es mußte daher von vornherein daran gedacht werden, daß es sich möglicherweise um Agglutination handelt, bei der die eingesäten Sporen zusammengeballt werden, so daß die Anzahl der aufgegangenen Rasen wohl der Anzahl der zusammengeballten Haufen, nicht aber der Anzahl der überhaupt noch lebenden einzelnen Keime entspricht. Obwohl diese Annahme durch einen einfachen Vergleich der in den Spalten a aufgeführten Zahlen, wenigstensbei Bouillon und bei fast jedem Serum von der Hand gewiesen werden konnte, so lag doch die Sache beim Kaninchenserum durchaus nicht so einfach. Ich versuchte daher durch Untersuchung im hängenden Tropfen diese Frage näher zu prüfen. Ich verrieb alte Schrägagarkulturen in Kochsalzlösung, Kaninchen-, Pferde-, Rinder-, Hammel-, Ziegen-, Meerschweinchen- und Hundeserum, und beobachtete die Aufschwemmungen sofort nach der Verreibung etwa 10—30 Minuten lang im hängenden Tropfen. In Kochsalz lagen die weitaus meisten Sporen einzeln; in jedem Gesichtsfeld fand ich aber auch bis 5 Gruppen, die aus 5—10 Sporen zusammengeballt waren. In Bouillon waren die Verhältnisse ähnlich, doch fanden sich hier etwas zahlreichere und auch größere Gruppen von Sporen. Wesentlich anders war dagegen das Bild beim Serum. Auch im Serum lagen zwar die meisten Sporen einzeln, doch fanden sich in jedem Gesichtsfelde 20—30 Gruppen, die aus 5, 8, 10, ja aus 20—30 Sporen bestanden. Es schien also Agglutination vorzuliegen. Dabei fiel mir jedoch auf, daß die Anzahl und die Größe der zusammengeballten Haufen bei längerer Betrachtung nicht größer wurde. Daraus schloß ich, daß diese Zusammenballung vielleicht nicht nachträglich eingetreten sei, sondern auf eine ungenügende Verreibung der Sporen im Serum zurückzuführen sein müsse. Ich konnte mich auch überzeugen, daß meine Annahme richtig war, denn als ich die Versuche in der Weise anstellte, daß ich die Schrägagarkultur zuerst in Kochsalz verrieb und dann die Aufschwemmung

Zusammenstellung No. 1.

Verhalten der Sporen in verschiedenen Flüssigkeiten (2,0 ccm in Glasröhrchen) bei 20° und 37° C.

Laufende No.	Stammnummer	Bezeichnung der Versuchsflüssigkeit	Alter	Anzahl d. auf 0,1 ccm d. Versuchsflüssigk. eingesäten Sporen	Anzahl der in 0,1 ccm der Versuchsflüssigkeit auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach: Die entnommene Flüssigkeit wird vor dem Ausgießen auf Platten: a) nicht erwärmt, b) 3 Minuten auf 80° C erwärmt.																	
					10 Min.		20 Min.		40 Min.		1 Std.		5 Std.		14 Std.		24 Std.		48 Std.		72 Std.	
					a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Bei 37° C																						
1	III	Kochsalz		1 000	1 000	1 000	1 000	800	900	700	900	700	900	400			300	0				
2	III	„		1 000	1 000	1 000	1 000	900	1 000	700	1 000	700	900	350			200	0				
3	V	„		30 000	30 000	30 000	30 000	30 000	30 000	28 000	30 000	27 000	25 000	18 000			6000	500				
Bei 20° C																						
4	III	Kochsalz		1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	900	1 000	800	9 000	700			400	100				
Bei 37° C																						
6	I	Leitungswasser		900	900	900	900	600	900	400	900	400	1 200	200			2000	200				
7	I	Bouillon		500	500	10	500	16	500	1	500	0	1 000	0			∞	∞				
8	III	„		800	800	20	700	3	800	2	800	1	2 000	0			∞	∞				
9	III	„		600	600	15	500	15	600	5	600	5	1 000	0			∞	∞				
10	III	„		1 000	1 000	150	900	120	900	10	900	0	2 000	0			∞	∞				
11	V	„		6 000					6 000	0			15 000	0			∞	∞				
12	V	„		30 000	30 000	6 000	30 000	300	30 000	200	30 000	30	∞	0			∞	∞				
13	III	„		1000 000									∞	500								
14	IV	„		1000 000									∞	600								
15	I	„		10 000											80 000	8						
16	II	„		12 000											100 000	1						
17	III	„		8 000											60 000	2						
18	IV	„		10 000											80 000	4						
19	V	„		12 000											100 000	10						
Bei 20° C																						
20	III	Bouillon		800	800	100	800	13	700	11	700	11	1 200	0			∞	0				

Laufende No.	Stammnummer	Bezeichnung der Versuchsflüssigkeit	Alter	Anzahl d. auf 0,1 ccm d. Versuchsflüssigk. eingesäten Sporen	Anzahl der in 0,1 ccm der Versuchsflüssigkeit auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach: Die entnommene Flüssigkeit wird vor dem Ausgießen auf Platten: a) nicht erwärmt, b) 3 Minuten auf 80° C erwärmt																	
					10 Min.		20 Min.		40 Min.		1 Std.		5 Std.		14 Std.		24 Std.		48 Std.		72 Std.	
					a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
									Bei 37° C													
21	I	Kaninchenserum	2 Std.	60 000													7	2	30	6	5 000	600
22	I	dgl.	2 „	60 000													20	5	100	5	7 000	800
23	III	„	2 „	30 000															10	1	100	8
24	III	„	2 „	1 000 000									800	500			800	10	10 000	100	∞	∞
25	III	„	2 „	2 000 000													∞	10	∞	200	∞	∞
26	I	„	24 „	600	300	10	150	2	30	1			5	0			0	0				
27	I	„	3 Tage	80 000																	60 000	6000
28	V	„	11 „	6 000					200	100			20	0			10	0	400	8	8 000	600
29	I	inaktiviertes Pferdeserum	4 „	900	900	30	900	25	900	18			1 800	1			∞	2	∞	200	∞	∞
30	I		2 Std.	1 000	1 000	400			600	200			10	3			18	0	500	200		
31	V	dgl.	2 Tage	6 000					4 000	80			40	5			60	10	1 000	300		
32	I	„	2 „	1 000 000															∞	∞		
33	V	Rinderserum	2 „	6 000					6 000	150			9 000	3			∞	3000	∞	∞		
34	I	„	3 „	100 000													∞	∞	∞	∞		
35	V	Hammelser.	24 Std.	30 000	30 000	6 000	30 000	5 000	30 000	4 000			50 000	200			∞	3000				
36	V	„	2 Tage	6 000	6 000	250			6 000	100			12 000	100			∞	1000				
37	II	„	4 „	10 000											80 000	800						
38	V	Ziegenserum	2 Std.	6 000					6 000	30			1 200	6			∞	3000				
39	III	„	9 Tage	1 000	1 000	50	1 000	30	1 000	10			1 500	0			∞	900				
40	III	„	11 „	800	800	70	800	50	800	40			1 600	2			∞	200				
41	V	Meerschweinchenserum	2 Std.	6 000					6 000	300			4 000	20			∞	250				
42	V	Schweineserum	2 Tage	6 000					6 000	10			6 000	0			∞	300				
43	III	Hühnerser.	2 Std.	1 000 000													∞	∞				
44	I	„	8 Tage	1 000	1 000	200	1 000	80	1 000	35	1 000	24	2 500	0			∞	500				
45	I	Hundeserum	4 „	1 000	1 000	100	1 000	80	1 000	50			1 500	7			∞	20	∞	∞		

dem Serum zusetzte, ergab die Untersuchung im hängenden Tropfen keine wesentlichen Unterschiede beim Serum, bei Bouillon und beim Kochsalz. Es ergab sich aber daraus, daß die Verreibung von Sporenkulturen im Serum viel schwieriger zu bewerkstelligen ist als im Kochsalz oder in Bouillon, wahrscheinlich wegen des Schleims, der in jeder Agarkultur, wenn sie nicht schon ganz eingetrocknet ist, in mehr oder weniger großen Mengen vorhanden ist und der die sonst einzeln liegenden Sporen zusammenhält, und daß dieser Schleim im Serum sich nicht so leicht löst wie in Kochsalz. Bei meinen späteren Versuchen habe ich daher die Sporen nicht unmittelbar im Serum verrieben, sondern immer nur gut verteilte Kochsalzaufschwemmungen benutzt.

Wie schon erwähnt. sind bei meinen Versuchen auf den Platten, die ich 10 Minuten nach der Einsaat nach nochmaligem Erwärmen auf 80° C aus Bouillon und aus dem Serum verschiedener Tiere anlegte, nur ganz wenige Keime aufgegangen. Diese Ergebnisse stimmen mit den von Weil (96) angestellten Versuchen überein. Um Agglutination konnte es sich, wie eben ausgeführt, nicht handeln. Ich konnte aber auch Weils Ansicht nicht beitreten, wonach die Sporen durch das nochmalige Erwärmen auf 80° C in so großen Mengen abgetötet werden, denn nach meinen Vorversuchen können widerstandsfähige Sporen sehr wohl eine Erwärmung von zweimal 3 Minuten auf 80° C vertragen. Aus den von mir festgestellten Tatsachen folgerte ich vielmehr, daß an den Sporen schon während ihres kurzen Verweilens in Bouillon oder in Serum Veränderungen eintreten müssen, die mit der Sporenkeimung im Zusammenhange stehen und die die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegen hohe Wärme aufheben.

Welcher Art diese Veränderungen seien, das versuchte ich durch mikroskopische Untersuchungen zu ergründen. Aus den mit Sporenaufschwemmungen beschickten, im Wasserbade von 37° C stehenden Röhrchen nahm ich zu diesem Zwecke in bestimmten Zeitabschnitten kleine Proben und beobachtete sie in dem nach Nuttall hergestellten Brutschrank im hängenden Tropfen bei 37° C; außerdem fertigte ich gefärbte Ausstriche an.

Einige dieser Beobachtungen will ich hier anführen, bemerke jedoch, daß es mir aus äußeren Gründen leider nicht möglich gewesen ist, die Vorgänge in der Zeit von etwa 1½—5 Stunden nach der Einsaat zu beobachten. Das ist aber nicht von so großer Bedeutung, weil die in diese Zeit fallenden Veränderungen bereits von Preisz (81) und Nakanishi (66), sowie von anderen Forschern beobachtet und beschrieben sind.

1) 5 Tage alte Schrägagarkultur: 1 Oese in 2 ccm Bouillon ohne Erwärmen auf 80° C, bei 37° C im hängenden Tropfen:

Nach 0 Minuten: Sporen meist hellglänzend, stark lichtbrechend, in lebhafter Bewegung; Hülle dünn, scharf begrenzt.

Nach 5 Minuten: Allmählich kommen einzelne Sporen mehr zur Ruhe, sie werden mehr rund, die Hülle wird mehr glasig, durchscheinend.

Nach 10 Minuten: In der Mitte der Spore ist ein dunkler runder Kern zu sehen.

Nach 15 Minuten: Die runden Sporen strecken sich wieder, ebenso wird der Kern länglich.

Nach 30 Minuten: Die Sporen werden größer, Längsdurchmesser etwa doppelt so groß wie zu Anfang.

Nach 40 Minuten: Der dunkle Kern wird immer deutlicher und länger; die Hülle erscheint mehr gequollen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Nach $1^1/_2$ Stunden: An zahlreichen Sporen eine deutliche Einschnürung, die auch am Kern sichtbar ist. Von den beiden abgeschnürten Teilen ist der eine meist viel größer als der andere, nur bei wenigen sind die beiden Teile gleich. Zahlreiche Sporen noch unverändert, in lebhafter Bewegung, stark lichtbrechend.

Nach 5 Stunden: Zahlreiche hantel- oder semmelförmige Gebilde mit ebenso gestaltetem Kern; außerdem schon neu gebildete Stäbchen, aus 4—6 Gliedern bestehend; vereinzelte Sporen noch stark lichtbrechend, glänzend, unverändert. In 0,1 ccm der Versuchsflüssigkeit gehen in der ohne vorherige Erwärmung auf 80° C angelegten Platte unzählige Keime auf, in der nach vorherigem Erwärmen auf 80° C angelegten Platte nur 500 Keime.

2) 25 Tage alte Schrägagarkultur: Eine Oese auf 2 ccm Bouillon, 5 Minuten lang auf 80° C erwärmt, sofort abgekühlt, dann im Wasserbade von 37° C. Untersuchung im hängenden Tropfen:

Nach 0 Minuten: Alle Sporen in lebhafter Bewegung, stark lichtbrechend, hellglänzend, Sporenhaut scharf begrenzt, dünn.

Nach 5 Minuten: Zahlreiche Sporen befinden sich in Ruhe und bekommen eine rundliche Gestalt.

Nach 10 Minuten: Die Sporenhaut wird dicker, glasig, durchscheinend, in den Sporen ein dunkler runder Kern sichtbar.

Nach 20 Minuten: Die runden Sporen fast doppelt so groß als die ovalen, hellglänzenden Sporen; in den runden Sporen ein Kern deutlich sichtbar. Einzelne von den großen Sporen strecken sich wieder, ebenso wird der Kern länglich.

Nach 1 Stunde: Die großen Sporen strecken sich weiter, Längsdurchmesser fast zweimal so lang als Querdurchmesser. Einige zeigen schon deutliche Einschnürung, meist nicht genau in der Mitte. Der Kern schon hantelförmig. Zahlreiche unveränderte Sporen und alle genannten Veränderungen auf verschiedener Stufe der Entwickelung.

Nach $1^1/_2$ Stunden: Alle Stufen der bisher beschriebenen Veränderungen, daneben auch viele unveränderte Sporen.

Nach 6 Stunden: Zahlreiche 3—6-gliedrige Stäbchen, daneben hantel- oder semmelförmige Gebilde mit hellglänzender dünner Randzone; vereinzelte unveränderte Sporen. Auf den angelegten Agarplatten gehen in der Platte ohne vorherige Erhitzung unzählige Rasen, in der nach vorheriger Erwärmung auf 80° C angelegten Platte nur 600 Rasen auf.

3) 18 Stunden alte Schrägagarkultur: 1 Oese auf 2 ccm Bouillon, ohne vorherige Erwärmung auf 80° C, im Wasserbade von 37° C; Untersuchung gefärbter Ausstriche in Wasser (nicht in Kanadabalsam).

Nach 0 Minuten: Färbung nach Klett: Die meisten Stäbchen gleichmäßig dunkelblau gefärbt, in zahlreichen Stäbchen hellglänzende, überhaupt nicht oder nur schwach rosa gefärbte Sporen. Viele freiliegende, hellglänzende, überhaupt nicht oder nur schwach rosa gefärbte Sporen.

Färbung mit Karbolfuchsin (10 Minuten Kochen. Nachfärbung mit Methylenblau): Sporen rot, Stäbchen blau.

Nach 10 Minuten: Färbung nach Klett: Sporenfreie Stäbchen dunkelblau, sporentragende Stäbchen und Fäden rosa oder hellblau, gekörnt; Sporen meist dunkelrot oder dunkelblau.

Nach 20 Minuten: Färbung nach Klett: Sporenfreie Stäbchen dunkelblau; sporentragende Stäbchen mattblau oder hellrosa, gekörnt; Sporen schön sattblau mit ganz dunklem Kern, daneben hellglänzende [illegible] rosa gefärbte Sporen. Färbung mit Karbol- [illegible] rot, die meisten blau mit dunklem Kern.

[illegible] dieselben Bilder wie nach 10 und 20 Minuten.

[illegible] Färbung nach Klett: Zahlreiche ovale, sattblau [illegible] mal so groß als die eingesäten Sporen, Querdurch- [illegible] so lang wie der Längsdurchmesser; meist eingeschnürt [illegible] ebenso eingeschnürtem Kern, der wie zwei hintereinsnder- [illegible] aussieht; um das ganze Gebilde ein schwach rosaroter [illegible] Hof; sonst alle Entwickelungsstufen wie nach 10 und [illegible]

[illegible] Stunden: Färbung nach Klett: Zahlreiche sattblau gefärbte [illegible] zweigliedrig, mit ganz schwach rosarotem Hof umgeben. Außer- [illegible] Gebilde wie nach 1½ Stunden; unveränderte Sporen ganz vereinzelt.

Nach 24 Stunden: Färbung nach Klett: Lange, sattblau gefärbte Fäden, in den meisten deutlich erkennbare, scharf begrenzte, stark lichtbrechende Sporen, ebenso zahlreiche freie Sporen. Ein roter Hof um die sattblau gefärbten Stäbchen nicht bemerkbar.

4) 20 Tage alte Schrägagarkultur: 1 Oese auf 2 ccm Kochsalz, nach Erwärmung auf 80° C, im Wasserbade bei 37° C; Untersuchung im hängenden Tropfen:

Nach 6 Stunden: Runde große Sporen mit rundlichem Kern, ebenso große ovale Sporen mit ovalem Kern, keine Stäbchen; etwa die Hälfte der Sporen noch unverändert, klein, oval, hellglänzend, stark lichtbrechend, ein Kern nicht sichtbar.

5) 18 Stunden alte Schrägagarkultur: 1 Oese auf 2 ccm Kaninchenserum, ohne vorherige Erwärmung auf 80° C, im Wasserbade bei 37° C; Untersuchung im hängenden Tropfen:

Nach 0 Minuten: Lange Fäden mit Sporen und freie Sporen; Kapseln an den Fäden nicht bemerkbar.

Nach 5 Minuten: Sporen nicht so beweglich wie in Bouillon; sie quellen auf, werden rund; Kern noch nicht sichtbar.

Nach 10 Minuten: Stäbchen quellen weiter, werden teilweise bauchig, zeigen Lücken; Sporen rund, größer; Kern deutlich, Hülle glasig, glänzend; zahlreiche unveränderte Sporen.

Nach 20 Minuten: Die meisten Sporen gequollen, rund oder oval; Kern nicht mehr so deutlich erkennbar; wenige unveränderte Sporen.

Nach 1 Stunde: Sporen groß und verquollen; Hülle und Inhalt nicht mehr deutlich geschieden. Daneben noch Sporen wie nach 10 und 20 Minuten; wenige unveränderte Sporen.

Nach 6 Stunden: Ganz wenige plumpe zweigliedrige Gebilde wie zweiteilige Semmeln, von einer breiten hellroten Hülle umgeben; vereinzelte unveränderte Sporen. Es werden mit je 0,1 ccm Agarplatten angelegt: ohne vorherige Erwärmung unzählige Keime, nach vorheriger Erwärmung auf 80° C nur 500 Keime.

6) Schrägagarkultur, 24 Stunden alt: 1 Oese auf 2 ccm Kaninchenserum ohne Erwärmung auf 80° C, im Wasserbade von 37° C; Untersuchung von gefärbten Ausstrichen:

Nach 0 Minuten: Wie bei Versuch 2 nach 0 Minuten.

Nach 20 Minuten: Färbung nach Klett: Sporen dunkelblau, läng- [illegible] bedeutend größer; Kern nicht erkennbar.

[illegible] 30 Minuten: Viele große Sporen, mattblau gefärbt, ohne Kern; [illegible] Sporen wie nach 10 und 20 Minuten.

[illegible] 1 Stunde: Blaue Sporen nur noch vereinzelt, ebenso unveränderte hellglänzende und schwach rosa gefärbte Sporen. Die großen Sporen nur schattenhaft blau gefärbt, vom inneren Bau der Spore nichts zu erkennen.

Nach 6 Stunden: Wenige plumpe, kurze, zweiteilige Stäbchen mit breiter roter Kapsel. Daneben zahlreiche Gebilde wie nach 1 Stunde.

7) Schrägagarkultur, 3 Tage alt, nach Erwärmung in Kochsalzlösung auf 80° C, in 2 ccm Hammelserum im Wasserbade bei 37° C. Färbung nach Klett:

Nach 0 Minuten: Die meisten Sporen frei, hellglänzend oder schwach rosa gefärbt; einzelne große, mattblau gefärbte (abgetötete) Sporen.

Nach 10 Minuten: Sporen größer, rund und auch schon länglich, sattblau gefärbt mit dunkelblauem Kern. Zahlreiche Sporen unverändert.

Nach 20 Minuten: Sporen noch größer und mehr oval: Kern deutlich dunkelblau; Leib sattblau, mit einem rötlichen Saum umgeben; daneben Bilder wie nach 10 Minuten.

Nach 1 Stunde: Die großen ovalen Sporen deutlich eingeschnürt, ebenso der Kern, fast hantelförmig; der rote Hof um den Zellenleib sehr deutlich erkennbar. Zahlreiche unveränderte Sporen.

Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden: Zweiteilung deutlicher; der rote Hof breiter; daneben unveränderte Sporen und alle Entwickelungsstufen wie nach 10 Minuten bis 1 Stunde. Bei vielen, ebenfalls vom roten Hof umgebenen keimenden Sporen sind die beiden Teilstücke ungleich: der größere Teil erscheint flaschenförmig, aus dem der kleinere Teil wie ein langer Hals herausragt.

Nach 6 Stunden: 6—8-gliedrige, sattblau gefärbte Fäden mit sehr breiten Kapseln.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Milzbrandsporen, sobald sie in einen geeigneten Nährboden gelangen, sofort, innerhalb weniger Minuten, Veränderungen eingehen, durch die sie der den Sporen sonst eigentümlichen Widerstandsfähigkeit gegen hohe Hitzegrade beraubt werden. Mit diesen Veränderungen ist auch eine leichtere Färbbarkeit der Sporen verbunden. Die Veränderungen müssen als der Ausdruck der beginnenden Keimung angesehen werden. Die Keimung setzt demnach viel schneller ein, als man bisher angenommen hat. Es sind auch nicht nur vereinzelte Sporen, die, unter günstige Bedingungen gebracht, sofort zu keimen beginnen, sondern es tut dies die weitaus größte Mehrzahl der eingesäten Sporen. Nur einige wenige, zuweilen auch nur ganz vereinzelte Sporen, schicken sich erst nach längerer Zeit, nach 1 Stunde und noch später, zur Keimung an. Diese Tatsache hebe ich deshalb besonders hervor, weil sie sich bei meinen späteren Versuchen immer wiederholt, und zwar in der Weise, daß es immer einige wenige Milzbrandkeime gibt, die trotz derselben Bedingungen nicht das gleiche Los mit den meisten anderen Keimen teilen, sondern sich abweichend verhalten. Das abweichende Verhalten beschränkt sich oft nur darauf, daß sie bedeutend später demselben Schicksal wie die meisten anderen Milzbrandkeime verfallen.

Die physiologische Kochsalzlösung ist für die Sporenkeimung kein günstiger Boden, denn erst innerhalb 5 Stunden beginnt bei 37° C etwa bei der Hälfte, und bei 20° C nur bei etwa einem Viertel der eingesäten Sporen die Keimung. Die auskeimenden Sporen scheinen aber auch nur eine geringe Widerstandsfähigkeit gegen Kochsalz zu besitzen, denn innerhalb 24 Stunden gehen von den auskeimenden Sporen etwa $^2/_3$ zugrunde. Ob überhaupt und wann die Neubildung von Sporen in physiologischer Kochsalzlösung eintritt, habe ich nicht weiter verfolgt. Die 500 Sporen, die bei einer Einsaat von 30000 Sporen (Zusammenst. No. 1, lfde. No. 3) nach 24 Stunden in den Versuchsröhrchen vorhanden waren, können ebensogut neugebildete wie noch nicht ausgekeimte Sporen gewesen sein.

Günstiger für die Sporenkeimung ist gewöhnliches aufgekochtes Leitungswasser. Schon innerhalb 1 Stunde war über die Hälfte der eingesäten Sporen in der Keimung begriffen, und nach 5 Stunden war die Keimung so weit vorgeschritten, daß schon eine Vermehrung der Keime festgestellt werden konnte. Leitungswasser scheint demnach die jungen Keimlinge nicht zu schädigen wie Kochsalz. Die Neubildung von Sporen im Leitungswasser habe ich auch nicht weiter verfolgt. Nach 24 Stunden war die Anzahl der Sporen nicht größer als nach 5 Stunden, im Gegensatz zum Kochsalz, in welchem die Anzahl der Sporen beträchtlich geschwunden war. Meine wenigen Versuche über die Sporenbildung und Sporenkeimung in physiologischer Kochsalzlösung und Leitungswasser sind aber nicht ausreichend, um etwas Bestimmtes darüber sagen zu können. Ich führe sie hier nur der Vollständigkeit wegen an.

In Bouillon setzt die Sporenkeimung bei 37° C sofort ein, und zwar bei fast sämtlichen eingesäten Sporen, so daß sich nach 1 Stunde nur noch ganz vereinzelte Sporen vorfinden, die hohen Hitzegraden widerstehen. So widerstand z. B. bei Stamm V von 6000 eingesäten Sporen nach 40 Minuten keine einzige Spore mehr der Erwärmung auf 80° C, von 30000 eingesäten Sporen desselben Stammes waren nach 40 Minuten nur noch 200 Sporen hitzefest und von 1000000 Sporen nach 5 Stunden nur 500 bezw. 600 Sporen. Wann nun der Keimling als ausgekeimt anzusehen ist, läßt sich schwer bestimmen; daher rühren wohl auch die großen Widersprüche her, die in der Literatur über den Zeitpunkt der Sporenkeimung vorgefunden werden. Wenn man die Zweiteilung des aus dem Kern entstandenen Stäbchens als Abschluß der Keimung ansieht, so wird man mit Grethe (45) sagen können, daß die Sporenkeimung sich in $^3/_4$—$1^1/_2$ Stunden vollzieht. Hierbei darf aber nicht außer acht gelassen werden, daß man auch nach 3 Stunden noch alle Keimungsstufen vorfindet, zu einer Zeit, wo einige Sporen noch fast ganz unverändert sind, andere dagegen schon zu 6—8-gliedrigen Milzbrandstäbchen ausgewachsen sind. Bei der Mehrzahl der Sporen kann man aber die Keimung nach 3—5 Stunden als beendet betrachten.

Bei diesem Sachverhalt ist es sehr schwierig, den Zeitpunkt zu ermitteln, wo die Stäbchen einerseits schon gut ausgebildet und andererseits noch sporenfrei sind, und zwar um so mehr, wenn man, um möglichst viel Keime in wenig Flüssigkeit zu haben, mit großen Einsaaten arbeiten muß. Dazu kam bei meinen Versuchen noch der Uebelstand, daß ich aus äußeren Gründen 8—12 Stunden nach dem Anlegen der Kultur, wo diese vielleicht für meine Zwecke am geeignetsten gewesen wäre, weder die Beschaffenheit der Kultur weiterverfolgen noch zu meinen Versuchen verwenden konnte. Daß ich nur von Sporen und nicht von Stäbchen ausgehen konnte, war mir nach meinen Voruntersuchungen ohne weiteres klar, und ich habe mich wiederholt davon überzeugt, daß aus Stäbchen angelegte Bouillonkulturen für meine Zwecke ganz unbrauchbar waren, denn sät man Milzbrandstäbchen ein, so kann man beobachten, daß sofort nach der Einsaat ein Teil der Stäbchen zugrunde geht, der andere zu Ketten auswächst und der dritte sich sofort

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

zur Sporenbildung anschickt. Sporenfreie Kulturen kann man also durch Einsaat von Stäbchen überhaupt nicht erzeugen. Ich bin daher stets von Sporen ausgegangen und habe gesehen, daß man etwa 12—14 Stunden nach der Einsaat der Sporen Kulturen erhält, die sehr schön färbbare Stäbchen und nur ganz vereinzelte Sporen enthalten. In der Zusammenstellung No. 1 lfde. No. 15—19 habe ich eine solche Versuchsreihe aufgenommen. Hier war 14 Stunden nach der Einsaat die Anzahl der, wie wohl anzunehmen ist, schon neugebildeten und nicht der von der Einsaat zurückgebliebenen Sporen verschwindend klein, und in gefärbten Ausstrichen zeigten die Milzbrandstäbchen in der größten Mehrzahl eine satte gleichmäßige Färbung. Nach 15 Stunden traten die Sporen schon weit zahlreicher auf und nahmen von da ab ungeheuer schnell zu. Ich habe daher zu meinen Versuchen 12—14 Stunden alte, im Brutschrank von 37 ° C gewachsene Kulturen verwendet. Bei geringerer Wärme gewachsene Kulturen zu verwenden hatte ich Bedenken, weil ich, ohne besondere Versuche darüber angestellt zu haben, befürchtete, daß die bei geringerer Wärme gewachsenen Stäbchen vielleicht schwächer sein könnten, als die bei 37 ° C gebildeten Stäbchen.

Es wäre hier noch die Frage zu erörtern, in welcher Zeit innerhalb der Milzbrandstäbchen eine Neubildung von Sporen eintritt. Da ich bei meinen Versuchen stets nur von Sporen ausgegangen bin und festgestellt habe, daß von der alten Spore bis zur neuen Spore bei 37 ° C meistens eine Zeit von 14—15 Stunden vergeht, so bleibt zur Zeitbestimmung der Sporenkeimung aus Stäbchen nur übrig, von 14—15 Stunden die Zeit abzuziehen, in welcher der Keimungsprozeß bei der Hauptmasse der Sporen als beendet anzusehen ist. Diese Zeit muß nach Versuchen verschiedener Forscher und nach meinen Beobachtungen auf etwa 3 bis 5 Stunden angenommen werden, so daß zur Sporenbildung aus Stäbchen in Bouillon bei 37 ° C eine Zeit von etwa 10 Stunden erforderlich ist. Wenn Jacobsthal und Pfersdorff (56) auf mit Bouillon getränkten Gipsblöcken in kürzerer Zeit Sporenbildung gesehen haben, so ist nicht außer acht zu lassen, daß sie mit Stäbchen gearbeitet haben, die schon ein gewisses Alter besaßen und daher wohl auch schon die Vorveränderungen durchgemacht haben hönnen, welche zur Sporenbildung notwendig sind.

Aehnlich wie in Bouillonkultur, verhält sich die Sporenbildung und -keimung auf Schrägagar, doch fand ich hier die Anzahl der noch unveränderten Sporen stets größer als in Bouillonkulturen, was wohl darauf zurückzuführen ist, daß hier die Lebensbedingungen nicht für alle Keime so gleichmäßig sind, wie in Bouillon.

Im Kaninchenserum vollzieht sich die Sporenkeimung im wesentlichen ähnlich wie in Bouillon, aber vielleicht etwas weniger stürmisch. Hier tritt jedoch noch die milzbrandfeindliche Wirkung des Serums auf die keimenden Sporen und die Stäbchen hinzu, auf die ich später zurückkommen werde. Wesentlich anders als in Bouillon verhält sich dagegen die Neubildung von Sporen im Kaninchenserum. 24 Stunden nach der Einsaat findet man nur vereinzelte Sporen, deren Zahl bis zu 48 Stunden sich nur langsam vermehrt. Erst nach 72 Stunden kann, wie aus der Zusammenstellung No. 1 zu ersehen ist, von einer nennenswerten Sporenneubildung gesprochen werden, obwohl auch dann noch die Anzahl der neugebildeten Sporen in manchen Fällen kaum 10 v. H. der vorhandenen Stäbchen erreicht, in anderen Fällen aber auch schon recht beträchtlich sein kann. Ausdrücklich betonen möchte ich aber, daß an der Sporenbildung im Kaninchenserum auch solche Stäbchen mitbeteiligt sind, die eine Kapsel besitzen, wie ich mich wiederholt an gefärbten Ausstrichen überzeugen konnte. Im inaktivierten Serum liegen die Verhältnisse ähnlich wie im aktiven, wie auch Preisz (84) nachgewiesen hat.

Im Pferdeserum verläuft die Sporenkeimung durchschnittlich langsamer als im Kaninchenserum, die Neubildung von Sporen dagegen etwas schneller. Noch langsamer als im Pferdeserum keimen die Sporen im Meerschweinchenserum, im Rinderserum und im Hammelserum aus, etwas schneller dagegen im Hühnerserum und Hundeserum, und besonders schnell im Ziegenserum und Schweineserum. Die Neubildung von Sporen im Serum der letztgenannten Tiere geht aber bedeutend schneller vor sich als im Serum des Kaninchens und des Pferdes. Schon 24 Stunden nach der Einsaat findet man meist eine beträchtliche Anzahl neugebildeter Sporen. Ich habe jedoch bei meinen wenigen Versuchen gerade bezüglich des Zeitpunkts der Sporenneubildung im Serum ungeheuere Schwankungen gesehen, obgleich ich meine Versuche anscheinend unter denselben Bedingungen angestellt habe. Weitere Versuche über diese Frage wären sehr erwünscht, ebenso über die Frage, ob nicht irgendein Zusammenhang zwischen der Sporenkeimung und Sporenbildung einerseits und der Empfänglichkeit des betreffenden Tieres andererseits besteht. Aus meinen, allerdings wenigen Versuchen habe ich einen derartigen Zusammenhang nicht ersehen können.

II. Die Milzbrandkapsel.

Serafini (93) war der erste, der im Jahre 1888 an aus frischen Milzbrandtierkörpern stammenden Stäbchen eine Kapsel gesehen, sie färberisch dargestellt und beschrieben hat. Obwohl sie auch Danysz (27) im nächsten Jahre im Rattenserum beobachtet hatte, so fand diese Entdeckung zuerst nur wenig Beachtung. Erst nach 3 Jahren ist Pianese (77), und dann auch Johne (51) und Klett (59) darauf zurückgekommen. Letztere beiden haben auch neue Färbeverfahren zur Darstellung der Kapsel angegeben. In zutreffender Bewertung der Milzbrandkapseln für die Feststellung des Milzbrandes wurde dann besonders von tierärztlicher Seite nach Mitteln geforscht, um mit ihrer Hilfe die Milzbrandkapsel schnell und sicher darzustellen, wie es für veterinärpolizeiliche Zwecke erforderlich ist, zumal da man inzwischen eingesehen hatte, daß der Nachweis der Kapseln ebenso wie der der Stäbchen selbst mit jedem Tage nach dem Tode des an Milzbrand verendeten Tieres sich schwieriger gestaltete. So haben denn Olt (20), Lüpke (64), Räbiger (85) und Preusse (80) weitere Vorschriften zur färberischen Darstellung des Milzbrandes ausgearbeitet, auf die ich aber hier nicht weiter eingehen will. Fast sämtliche genannten Forscher betonen, daß man die Untersuchung gefärbter Ausstriche auf Kapseln nicht in Kanadabalsam, sondern in Wasser vornehmen müsse, weil die Kapsel in Kanadabalsam an Ausdehnung und Deutlichkeit verliere. Man hat jedoch bald eingesehen, daß die Kapsel durchaus nicht eine besondere Eigentümlichkeit des Milzbrandstäbchens ist, die es vor allen anderen Bakterien auszeichnet, sondern daß nicht nur, wie schon früher bekannt war, verschiedene anders geformte Bakterien Kapseln besitzen, sondern daß es auch andere Stäbchen von genau derselben Form und derselben Größe wie die Milzbrandstäbchen gibt, die mit einer Kapsel ausgestattet sind. So entdeckte Canestrini (22) als Erreger einer Erkrankung von

Bienen ein milzbrandähnliches Stäbchen, das mit einer Kapsel ausgestattet war, und Nötzel (68) fand in Tierleichen 10—15 Stunden nach dem Tode verschiedene milzbrandähnliche Stäbchen mit Kapseln, ebenso Berndt (16) in der Milz von Pferden. Auch Ostertag (71) hat 3mal ein Stäbchen in der Milz beobachtet, welches äußerlich dem Milzbrandstäbchen glich, und Schulz (92) hat aus der Milz einer Ziege Stäbchen gezüchtet, die sich von Milzbrandstäbchen nur dadurch unterscheiden, daß sie auf Mäuse nicht übertragbar waren.

Von anderer Seite wurde ferner darauf hingewiesen, daß auch in frischen Milzbrandtierkörpern durchaus nicht sämtliche Milzbrandstäbchen mit Kapseln ausgestattet sind. Tschernogoreff (94a) konnte beim Schwein und Pferd nur schwer die Milzbrandkapseln sichtbar machen, ebenso Schmidt (91a) beim Pferde, und Bongert beim Rinde. Auch Bail (8) hat beim Milzbrandkaninchen festgestellt, daß die einen Stäbchen eine Kapsel besaßen, die anderen dagegen nicht. Durch alle diese Beobachtungen kam man zu der Ueberzeugung, daß die Kapsel auch für die aus Milzbrandtierleichen stammenden Milzbrandstäbchen durchaus nichts Eigentümliches darstellt, und daß sie auch nicht immer und unter allen Umständen an tierischen Milzbrandstäbchen nachzuweisen ist. Andererseits war man aber auch bemüht, die Bedingungen kennen zu lernen, unter denen die Milzbrandkapsel entsteht.

Kern (57) hat zuerst die Milzbrandkapsel eingehend untersucht und sie auch in jedem Falle, wenn auch nicht in gleichem Maße, nachweisen können an Milzbrandstäbchen aus Agar-, Bouillon-, Gelatine- und Kartoffel-Kulturen. Junge Stäbchen haben nach Kern eine schmale, parallel zum Stäbchen verlaufende, aber sehr schwer färbbare Kapsel, ältere Kulturen dagegen blasenartig verbreitete, zwei- bis dreimal breitere und leichter färbbare Kapseln. Die Kapsel der aus Kulturen stammenden Milzbrandstäbchen ist überhaupt schwerer färbbar als die Kapsel der Leichenstäbchen, dafür aber auch schwerer zu entfärben. Nach Hase (48), Johne (53), Pianese (77), Nötzel (68), Hinterberger (52) und Preisz (81) bilden normalerweise Milzbrandstäbchen auf den gebräuchlichen Nährböden keine oder nur ganz vereinzelte Kapseln. Nach Preisz besteht die Kapselbildung in einer Veränderung der Zellmembran und erfolgt nur an lebenden Bacillen. Sie ist bedingt durch den Nährboden oder in der veränderten Lebenstätigkeit der Bacillen. Auf Agar bilden nur in gewissem Grade abgeschwächte Milzbrandstäbchen Kapseln. In Blutserum bekommen virulente Milzbrandstäbchen gute Kapseln, ebenso im Tierkörper. Der avirulente Milzbrandbacillus bildet nirgends Kapseln. Je mehr abgeschwächt der Bacillus ist, desto schneller bildet er auf Agar Kapseln; die Kapsel wird aber schnell schleimig. Die stärkeren bilden die Kapsel langsamer; die Kapsel ist aber fest, die Kolonieen nicht abfließend. Der virulente und der avirulente Milzbrandbacillus unterscheidst sich nach Preisz dadurch voneinander, daß bei letzterem im Tierkörper und in anderen geeigneten Medien die Kapselbildung ausbleibt. Durch die weiteren Arbeiten von Sawtschenko (90), Danysz (27), Johne (53—55), Hase (48), Hinterberger (52), Pane (72), Deutsch (28), Löhlein (62), Bongert (19), Ascoli (2), Bail (8), Gruber und Futaki (46), Preisz u. a. wurde endgültig festgestellt, daß das Milzbrandstäbchen auch in jedem Serum in mehr oder weniger starker Ausdehnung Kapseln bildet; auf anderen tierischen Stoffen, namentlich entbluteten Geweben, entstehen nach Preisz keine Kapseln, während nach Podwyssotzky (78) auf hirnhaltigem festen Nährboden reichliche Kapselbildung eintritt.

Von Pane (72), Bongert (19), Bail (8), Preisz (84) u. a. wurde darauf hingewiesen, daß die Milzbrandstäbchen nach einiger Zeit auch im Serum kapsellos wachsen, weil die kapselbildenden Eigenschaften des Serums erschöpft werden; ob aber dem Serum durch die Kapselbildung ein Bestandteil entzogen wird, wie Bail (8), Gruber und Futaki (46) behaupten, so daß die Milzbrandstäbchen daher nur so lange Kapseln bilden können, als der Stoff im Serum noch vorhanden ist, ist noch eine ungelöste Frage. Preisz nimmt vorläufig an, daß ein solcher Stoff vorhanden ist. Ein Beweis dafür ist ihm jedoch bis jetzt noch nicht gelungen. Er hat nur nachweisen können, daß sich die Bedingungen der Kapselbildung im Serum mit der Zeit verschlechtern.

Auch das eigentliche Wesen der Milzbrandkapsel und ihre Bedeutung für die Infektion und Immunität der Tiere suchte man zu erforschen. Kern behauptet, daß das Milzbrandstäbchen immer eine Kapsel besitzt, die aber unter gewissen Umständen breiter und dadurch leichter sichtbar wird, wohingegen Gebauer (43) die „Gallerthülle“ nicht für einen integrierenden Bestandteil des Milzbrandstäbchens hält, sondern sie nur unter bestimmten Verhältnissen in Erscheinung treten läßt. Nach Turrò (95) soll die Kapsel dadurch zustande kommen, daß ein Stoff diastatischer Natur das Milzbrandstäbchen zum Aufquellen bringt. Ebenso entsteht nach Preisz die Milzbrandkapsel durch Quellung der Membran, mit der aber auch zugleich eine chemische Veränderung (Degeneration) der Membran einhergeht, die sich durch starkes Färbungsvermögen zu erkennen gibt. Heim (51) gelang der Nachweis, daß die Milzbrandkapsel die spezifische Schleimreaktion zeigt, und er nahm an, daß die Ausscheidung der „Schleimhülle“ zur Abwehr gegen die bakterienlösenden Stoffe des Blutserums geschehe. Er machte auch darauf aufmerksam, daß mit Methylenblau gefärbte Kapselstäbchen schon mit bloßem Auge eine rotviolette Färbung aufweisen, was dann auch von Preisz bestätigt und von J. M. Fadyean (32) dahin weiter ausgedehnt wurde, daß in mit Methylenblau gefärbten Ausstrichen, in denen Milzbrandstäbchen nicht mehr zu erkennen sind, stets rotviolette, amorphe Massen mikroskopisch nachzuweisen wären. Nachdem Deutsch (28) beobachtet hatte, daß Kapselstäbchen in der Bauchhöhle des Meerschweinchens der Phagocytose widerstehen, und als Löhlein (62) diese Beobachtung nicht nur bestätigt, sondern auch gesehen hatte, daß im Glase Kapselstäbchen von den Freßzellen nicht aufgenommen werden, kamen Gruber und Futaki (46) auf Grund eingehender Untersuchungen zu dem Schlusse, daß in der Bildung der Kapseln überhaupt das wichtigste Schutzmittel der Milzbrandstäbchen gegen die Phagocytose bestehe. Zu einem ähnlichen Schlusse kommt auch Preisz (84), der in der Kapsel zwar nicht ein Schutzmittel gegen die Phagocytose, wohl aber gegen die milzbrandfeindlichen Stoffe des Tierkörpers erblickt. Er hat den Kapselstoff auch von den Milzbrandstäbchen getrennt und gesehen, daß kleine Mengen des dargestellten Kapselstoffes die bakterientötende Wirkung des Kaninchen- und Pferdeserums aufheben. Bail (8) dagegen vermutet, daß der Kapselbacillus ein „Krankheitszustand“ oder wenigstens ein „abnormer“ Zustand ist, und daß die Widerstandsfähigkeit des „tierischen“ Milzbrandstäbchens mit der Kapsel wohl nicht ursächlich zusammenhängt, sondern wohl nur eine Begleiterscheinung des veränderten Zustandes darstelle.

Bei meinen Versuchen habe ich von den gebräuchlichen Nährböden zunächst Bouillon und schwach alkalischen Schrägagar hinsichtlich der Kapselbildung untersucht. In frischen und auch in alten Bouillonkulturen zeigen die Stäbchen im hängenden Tropfen einen feinen, zarten, stark lichtbrechenden, scharf begrenzten Saum, der an der Grenze zwischen zwei Gliedern in der Regel gar nicht oder nur sehr wenig nach innen eingebogen erscheint, meist aber in ganz gerader Linie zu beiden Seiten des Fadens verläuft. Es sieht so aus, als ob in einem engen durchsichtigen Glasröhrchen in mehr oder weniger weiten Abständen weniger durchsichtige, zylindrisch geformte Stäbchen eingelagert wären. An den Enden des Zylinders fehlen zuweilen die Stäbchen, und es macht dann den Eindruck, als ob sie aus der Röhre herausgefallen wären. Auch im Verlauf des Fadens habe ich häufig Risse in der Hülle beobachtet, an denen die Stäbchen häufig ebenfalls fehlten. Innerhalb der Hülle sind die einzelnen Glieder an ihrem schmalen Ende von den benachbarten Gliedern durch einen dünnen, hellglänzenden Saum geschieden, der aber bei weitem nicht die Breite besitzt, wie die allgemeine Hülle. Liegen die Stäbchen dicht zusammen, so besitzen sie nur eine Scheidewand, die sich dann aber in zwei Blättchen teilt, sobald die Stäbchen weiter auseinanderrücken, so daß dann jedes Stäbchen innerhalb der Kapsel an dem schmalen Ende ihr eigenes zartes Häutchen besitzt, das von dem Häutchen des anderen Stäbchens mehr oder weniger weit entfernt liegt. Bei größeren Abständen zwischen den einzelnen Stäbchen eines Fadens sehen die Zwischenräume zwischen den einzelnen Stäbchen ähnlich leer aus, wie die stäbchenlosen Enden mancher Fäden. In gefärbten Ausstrichen nimmt die Kapsel der in Bouillon gewachsenen Fäden fast niemals den Farbstoff an, und bleibt daher in gefärbten Ausstrichen im Gegensatz zum hängenden Tropfen meist unsichtbar. Nur ausnahmsweise bemerkte ich in nach Klett gefärbten Ausstrichen den Zwischenraum zwischen den einzelnen Stäbchen ganz matt rosa angehaucht; der im hängenden Tropfen sichtbare Saum an der Seite des Fadens bleibt dagegen an den in Bouillon gewachsenen Fäden fast immer ungefärbt; nur bei ganz jungen Keimlingen, die eben aus den Sporen ausschlüpfen, ist, wie ich im vorhergehenden Abschnitt bereits erwähnt habe, ein rötlicher Saum deutlich sichtbar, der aber nur $^1/_5$, höchstens $^1/_4$ des Querdurchmessers des Stäbchens besitzt. Werden die Fäden länger, besitzen sie schon 6—8 Glieder, dann nimmt die Kapsel das Fuchsin nicht mehr auf, der rötliche Saum gibt sich nicht mehr zu erkennen. Diese meine Beobachtungen stimmen auch mit den Angaben von Kern und Preisz überein, welche die Milzbrandkapsel als einen integrierenden, in jedem Falle vorhandenen Bestandteil des Milzbrandstäbchens ansehen, und welche betonen, daß die ganz jungen Keime den Farbstoff viel gieriger aufnehmen als die älteren. Diese leichtere Färbbarkeit kommt aber nach meinen Beobachtungen nicht nur dem Leib, sondern auch der Hülle des ganz jungen Milzbrandstäbchens zu. Es kann nach alledem nicht angezweifelt werden, daß der Zellenleib des Milzbrandstäbchens in jedem Falle von einer äußeren Hülle, Membran oder Kapsel umgeben wird, die aber in gefärbten Ausstrichen deswegen nicht sichtbar gemacht werden kann, weil sie bei Züchtung auf den gewöhnlichen Nährböden, besonders in Bouillon, auf Gelatine oder auf Agar äußerst schmal ist und den Farbstoff nicht annimmt. Sie besteht, worauf ich noch zurückkommen werde, mindestens aus 2 Schichten, einer äußeren festeren, die dem Faden die äußere feste Begrenzung gibt, und einer inneren, die die Verbindung zwischen Zellenleib und der äußeren starren Hülle herstellt, sich bei der Teilung des Stäbchens zwischen die neugebildeten Glieder einschiebt und beim weiteren Wachstum der Milzbrandzellen die äußere starre Schicht erzeugt.

Wenn ich aber trotzdem von kapsellosen Stäbchen oder von Stäbchen ohne Kapseln spreche, so soll damit nicht behauptet werden, daß die so benannten Stäbchen keine Kapseln besitzen, sondern es soll damit nur zum Ausdruck gebracht werden, daß an den Kapseln noch nicht diejenigen Veränderungen eingetreten sind, die sie zur Aufnahme des Farbstoffes befähigen, d. h. solche Kapseln, die färberisch nicht sichtbar gemacht werden können.

Aehnlich wie in Bouillon liegen die Verhältnisse bei dem Wachstum der Milzbrandstäbchen auf Schrägagar. Auch hier bleiben die Kapseln in der Regel schmal und behalten ihre Widerstandsfähigkeit gegen Farbstoffe; doch habe ich auch in Schrägagarkulturen, ob jung oder alt, stets mehr oder weniger zahlreiche Stäbchen und Fäden vorgefunden, bei denen auch färberisch das Vorhandensein einer Kapsel deutlich nachgewiesen werden konnte. Besonders im Kondenswasser besitzen die meisten Stäbchen und Fäden Kapseln, die ebenso breit sind wie die Stäbchen selbst oder noch breiter. Die Kapseln der Stäbchen aus Schrägagarkulturen lassen sich jedoch nicht so stark färben, weder nach Klett noch mit Kristallviolett, wie die Kapseln der aus Milzbrandleichen oder aus Serum gewonnenen Stäbchen. Selbst das Safranin, das nach Heim mit dem Kapselstoff eine spezifische Schleimreaktion gibt, färbt die Kapsel aus Schrägagarkulturen immer nur mattgelblich, ein Zeichen dafür, daß die Kapseln auf Schrägagar, wenn sie auch schon gequollen und breiter sind als in Bouillon, doch noch nicht eine vollständige Umwandlung in Schleim erfahren haben. Das Verhältnis zwischen der Anzahl der Kapselstäbchen und der kapsellosen Stäbchen auf Schrägagar ist nach meinen Untersuchungen stark wechselnd. Ich habe sie unter anscheinend denselben Bedingungen einmal sehr zahlreich, das andere Mal nur ganz vereinzelt gesehen. Auch die Zeit, in der die Kapselstäbchen auf Agar auftreten, ist verschieden: einmal sind sie in jungen, das andere Mal in alten Kulturen in größerer Anzahl vertreten; sie bilden sich sowohl bei virulenten Kulturen, wie z. B. bei meinen sämtlichen, aus Tierleichen gewonnenen Stämmen, als auch bei abgeschwächten, wie z. B. bei den von Merck-Halle zur Schutzimpfung gegen Milzbrand bezogenen und sofort auf Agar gebrachten Kulturen. Die Angabe von Preisz, daß gerade die im gewissen Grade abgeschwächten Milzbrandstäbchen auf Agar die besten Kapseln bilden, während die virulenten die Kapseln nur langsam, die avirulenten dagegen gar keine Kapseln bilden, habe ich bisher noch nicht nachgeprüft. Hervorheben möchte ich jedoch, daß ich auf Agar niemals eine so allgemeine Kapselbildung gesehen habe wie im Serum, und daß auf Agar in der Regel nur wenige oder sogar nur ganz vereinzelte Stäbchen zur Kapselbildung schreiten.

Ganz anders verhält sich dagegen die Kapselbildung im Serum, und zwar sowohl im milzbrandfeindlichen wie im nicht feindlichen Serum, im aktiven wie im inaktivierten, im frischen wie im alten, im reinen wie im verdünnten, bei starker Verdünnung allerdings nicht so üppig wie im reinen Serum. Meine Versuche über die Kapselbildung in den verschiedenen Seris habe ich in der Weise angestellt, daß ich bei 37° C in 2,0 ccm Serum enthaltende Glasröhrchen Milzbrandkeime einsäte und dann in bestimmten Zeitabschnitten gefärbte Ausstriche machte, die ich in Wasser untersuchte. Von der Untersuchung im hängenden Tropfen habe ich Abstand genommen, weil hier, wie ich schon angeführt habe, in jedem Falle eine Milzbrandkapsel zu sehen ist. Von den gebräuchlichen Färbungen hat sich für meine Zwecke am besten die Vorschrift nach Klett bewährt, namentlich bei den Untersuchungen der ersten Entwickelungsstufen der Kapseln, weil bei diesem Verfahren die Unterschiede zwischen den blau gefärbten Zellleibern und den roten Kapseln sich am besten zu erkennen geben. Kristallviolett, stark verdünnt, 1:20—40, entweder nach etwa 20 Minuten langer Einwirkung bei Zimmerwärme, oder nach kurzem Erwärmen über der Gasflamme, war dagegen für die Untersuchung der ersten Entwickelungsstufen der Kapseln weniger gut geeignet, weil die jungen Gebilde das Kristallviolett viel gieriger als das Fuchsin aufnehmen, und den Farbstoff auch nicht so leicht wieder abgeben, so daß bei der Färbung mit Kristallviolett bei den jungen Keimen die färberischen Unterschiede zwischen dem Zellleibe und der Zellhülle nur schwach hervortreten. Ganz ausgezeichnet und besser als die Klettsche Färbung erwies sich dagegen Kristallviolett zur färberischen Darstellung älterer Kapseln. Denn während Fuchsin von älteren, schon im Schwinden begriffenen und abgestorbenen Kapseln nur schlecht oder gar nicht mehr aufgenommen wird, lassen sich die Kapseln auf diesen Entwickelungs- bezw. Untergangsstufen noch sehr schön, wenn auch nur matt, mit Kristallviolett darstellen. Solche Kapseln zeigen dann eine mehr oder weniger hellviolette Färbung, die aber von dem absterbenden, aber auch unter solchen Umständen immer noch satter gefärbten Zellenleib genügend absticht.

Einige von diesen Versuchen will ich hier anführen, bemerke aber, daß ich nur diejenigen Zustände und Veränderungen hervorheben werde, die die Bildung und den Schwund der Kapseln betreffen. Auf den Untergang der Milzbrandstäbchen selbst und die damit einhergehenden rückgängigen Veränderungen an der Kapsel werde ich in dem nächsten Hauptabschnitt zurückkommen. Wenn ich von einer vielfachen Kapsel spreche, so soll damit nicht etwa eine Schichtung der Kapsel, sondern nur das Verhältnis des Querdurchmessers der Kapsel zum Querdurchmesser des Stäbchens zum Ausdruck gebracht werden.

1. Stamm IV. 14 Stunden alte Schrägagar-Kultur. Eine Oese auf 2,0 ccm 24-stündigen Hammelserums, bei 37° C; Färbung nach Klett.

Nach 0 Minuten: Schön satt und gleichmäßig blau gefärbte Stäbchen ohne Sporen und ohne Kapseln.

Nach 10 Minuten: Die Enden der einzelnen Glieder der Ketten scheinen durch zarte, rötlich gefärbte und bauchig nach außen hervortretende Fäden verbunden zu sein. An den Seitenrändern der Glieder ein roter Saum noch nicht bemerkbar.

Nach 20 Minuten: Die roten Verbindungslinien zwischen den einzelnen Gliedern deutlich erkennbar. Zwischen den Stäbchen einiger Ketten treten schon fast ganz geschlossene, rote Ringe auf, die die Enden der Stäbchen berühren und seitwärts halbkreisförmig herausragen. Die Ketten erscheinen daher an bestimmten Stellen, die den Zwischenräumen der Glieder entsprechen, kugelförmig verdickt. An den Seitenrändern der Stäbchen ist jetzt auch schon eine ganz mattrote Färbung erkennbar. An den freien Enden mancher Ketten sieht man rote, geschlossene oder noch offene, rote Ringe, welche die Ketten überragen, und wenn sie nicht geschlossen sind, eine gewisse Aehnlichkeit mit den Fühlern eines Insekts besitzen. Es macht den Eindruck, als ob eine Gliederkette zerrissen, und der rote Ring entweder ganz oder teilweise an dem einen Gliedende haften geblieben wäre. Diese Veränderungen sind aber noch nicht an allen Ketten und Gliedern zu sehen, sondern nur an einer geringen Anzahl. Es gibt noch zahlreiche lange, 40—50-gliederige Ketten, an denen weder von den roten Ringen zwischen den einzelnen Gliedern, noch von dem rosaroten Saum an den Seitenrändern die geringste Spur wahrzunehmen ist. An anderen Ketten zeigen sich die Ringe auch nicht in allen Zwischenräumen, sondern nur hier und da. An den meisten Ketten und Stäbchen, auch an gleichmäßig satt blau gefärbten, ist aber von der Kapselbildung überhaupt noch nichts zu sehen.

Nach 35 Minuten: Die Seitenränder der Stäbchen und Ketten zeigen einen deutlichen, scharfbegrenzten, roten Saum, der entweder überall gleichmäßig stark ist oder an den Enden der einzelnen Glieder eine größere Breite besitzt und hier in den roten Ring des Zwischenraumes überzugehen scheint. Bei anderen Stäbchen ist dagegen der rote Rand in der Mitte des Gliedes breiter, in der Nähe der Verbindungsringe dagegen schmäler, so daß solche Ketten an den Seitenrändern eine wellenförmige, rote Begrenzung zeigen, wobei ein hoher, kurzer, und ein niedriger, längerer Wellenberg, mit je einem Wellentale abwechselt. Sehr zahlreiche, gleichmäßig und tiefblau gefärbte Stäbchen und Ketten zeigen aber auch jetzt noch keine Andeutung vom roten Saum oder von den roten Verbindungsringen.

Nach $1^1/_2$ Stunden: Der helle Saum an den Seiten der Stäbchen ist schon deutlicher, ebenso breit oder noch breiter als das Stäbchen. Die äußere Schicht dunkelrot, die Innenschicht gleichmäßig hellrot gefärbt. Der dunkelrote Rand geht entweder in den Verbindungsring unmerklich über, oder er geht darüber, ohne sich mit ihm zu verbinden, hinweg, und zwar entweder in gerader oder bei größeren Ringen in wellenförmig nach außen gebogener Linie. Die Kapsel erscheint daher an solchen Stellen doppelt. Eine so beschaffene Kette sieht einem Bambusrohre ähnlich aus, die Zwischenräume zwischen den einzelnen Gliedern entsprechen den knotenartig verdickten Stellen des Bambusrohres. Auch alle diese Veränderungen sind nur noch bei wenigen Ketten und Gliedern vollständig ausgebildet. An den meisten sieht man die bis dahin beschriebenen Veränderungen abwechselnd auftreten. Der eine Teil der Kette zeigt schon schöne Kapseln, 1—2-fach, auch Bambusformen, der andere erst einen rötlichen, schwachen Saum und rote Ringe zwischen den Gliedern, der dritte nur rote Ringe, und der vierte überhaupt noch keine Andeutung von Kapselbildung. Alle diese Uebergangsformen sieht man nicht nur an langen Ketten, sondern auch zahlreiche kürzere Fäden zeigen an ihren einzelnen Abschnitten fast sämtliche bisher beschriebene Entwickelungsstufen der Kapselbildung.

Nach 6 Stunden: Lange und kurze Fäden mit satt gefärbten, 3—4-fachen Kapseln. Die ganz breiten Kapselstäbchen zeigen nur selten die Bambusform; der Rand der Kapsel verläuft meist in gerader oder regelmäßig bogenförmiger Richtung. Nur hier und da zeigt sich eine schwache Ausbuchtung nach außen in der Höhe der Gliederenden. Die schmäleren Kapselstäbchen zeigen fast alle deutliche Bambusformen; daneben alle bisher beschriebenen Entwickelungsstufen und auch zahlreiche Stäbchen und Fäden, die noch vollständig kapsellos erscheinen.

Nach 18 Stunden: Fast sämtliche Stäbchen sind schon mit Kapseln ausgestattet in allen bisher beschriebenen Uebergangsstufen und Formen; daneben auch lange Fäden, sowie kurze, 2—3-gliederige, gut und gleich-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

mäßig gefärbte Stäbchen ohne Kapseln. An manchen Kapselstäbchen erscheint der Rand der Kapsel wie zerfasert, mit dunkelrot gefärbten bröckeligen Massen umgeben. Die Innenschicht mancher Kapsel zeigt eine deutliche Längsstreifung, so daß solche Kapseln eine unregelmäßige Schichtung aufweisen. Die Innenschicht der Kapsel ist bei manchen Stäbchen von dem Rande, bei anderen dagegen von dem Stäbchenleibe losgelöst.

Nach 24 Stunden: Die Zahl der geschichteten und sich loslösenden Kapseln ist größer, die dunklen formlosen Massen, die den Rand der Kapsel umgeben, zahlreicher; der Rand scheint sich in diese Massen aufzulösen und mit den Kapseln anderer Stäbchen zusammenzufließen, Daneben längere und kürzere Fäden mit 2—4-facher, schön gefärbter Kapsel und Uebergangsformen vom roten Saum bis zu ganz breiten Kapseln. Viele kapsellose Stäbchen und Ketten.

Nach 48 Stunden: Alle bisher beschriebenen Formen in verschiedener Anzahl. Sporenbildung in kapsellosen und mit 1—2-facher Kapsel umgebenen Stäbchen deutlich erkennbar, auch freie Sporen. Die Zahl der im Zerfall begriffenen Kapseln bedeutend größer als nach 24 Stunden, ebenso die Zahl der kapsellosen. 0,1 ccm 3 Minuten auf 80° C erwärmt, ergibt zahllose Keime auf der Agarplatte.

Nach 72 Stunden: Zerfall der Kapseln weiter vorgeschritten. Manche Stäbchen und Ketten, in deren Umgebung formlose, dunkle Körner zu sehen sind, liegen wie in rosarote, wolkige Masse eingebettet. Kapsellose, satt gefärbte Stäbchen und Ketten zahlreicher als Kapselstäbchen. Neben verschiedenen Entwickelungsstufen der Kapseln findet man 4—10-gliederige Stäbchen, die eine 3—4-fache, schön rot gefärbte und mit dunkelrotem Rande versehene Kapseln zeigen (aus Sporen frisch ausgekeimte Stäbchen?); Sporenbildung in kapsellosen und Kapselstäbchen deutlich erkennbar. Zahlreiche freie Sporen. 0,1 ccm 3 Minuten auf 80° C erwärmt, ergibt auf der Agarplatte zahllose Keime.

2. Stamm V. 5 Tage alte Schrägagarkultur. Eine Oese in Kochsalzlösung 3 Minuten auf 80° erwärmt, auf 2,0 ccm 2-stündigen Ziegenserums.

Nach 0 Minuten: Nur Sporen.

Nach 5 Stunden: Zahlreiche Sporen auf verschiedenen Stufen der Auskeimung. Manche zeigen die Gestalt einer bauchigen Flasche, aus der ein langer Hals hervorragt. Andere wieder sind gleichmäßig 2-teilig wie eine Semmel. Der Rand ist bläulich. Der längliche Kern, entweder stäbchen- oder hantelförmig, oder bereits geteilt, ist tiefblau, die Zwischenschicht zwischen Rand und Kern hellrot. Andere längere Keime zeigen ebenfalls einen blauen Rand und einen blauen Kern, der aber in 4 Teile geteilt ist; der äußere Rand ist an den Teilstellen des Kernes etwas nach innen eingezogen, wie bei 4-gliederigen Kapselstäbchen, aber nicht dunkelrot, sondern dunkelblau gefärbt. Auch fertig ausgebildete Kapselstäbchen mit 3—4-facher Kapsel sowie auch lange bis 60-gliederige (!) Ketten mit dunkelblauen Stäbchen, dunkelrotem Kapselrande und hellroter Kapsel. Die Enden der Glieder zeigen eine etwas stärkere Verdickung, die Verbindungslinien treten nicht deutlich hervor. Eine Schichtung der Kapseln ist nicht bemerkbar.

Nach 18 Stunden: Schöne, 2—4-fache Kapseln an kurzen Stäbchen und längeren Ketten. Die Kapseln zeigen aber schon vielfach Ablösung vom Rande oder vom Zellleibe, ebenso treten schon die dunklen, formlosen Massen in der Umgebung des Kapselrandes auf. An vielen Stäb-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

chen und Ketten mit und ohne Kapseln rote Verbindungsringe zwischen den einzelnen Gliedern deutlich sichtbar. Zahlreiche Bambusformen und viele satt und gleichmäßig gefärbte Stäbchen und Ketten ohne jede Andeutung von Kapselbildung.

Nach 24, 48 und 72 Stunden: Alle Entwickelungsformen wie im Hammelserum, doch ist die Anzahl der mit schönen, breiten, nicht geschichteten und nicht losgelösten Kapseln versehenen Stäbchen größerer als im Hammelserum, die Anzahl der kapsellosen Stäbchen und Ketten dagegen bedeutend geringer.

3) Stamm II (Merck-Halle). 4 Monate alte Schrägagarkultur. Eine Oese auf 2,0 ccm 2 Tage alten Hammelserums.

Nach 0 Minuten: Nur Sporen, darunter wenige blau oder rötlich gefärbt. Stäbchen oder Kapseln nicht vorhanden, dagegen formlose, rotgefärbte, körnige Massen.

Nach 14 Stunden: Nur wenige, gleichmäßig und satt blau gefärbte, meist zu längeren, aber auch nur zu 4—6-gliederigen Fäden verbundene Stäbchen ohne Kapseln. Alle anderen Stäbchen und Ketten sämtlich mit 1—4-facher Kapsel ausgestattet. Auch die Verbindungsringe zwischen den Gliederenden innerhalb der Kapsel deutlich erkennbar. Die Ringe sieht man auch an einigen wenigen, im übrigen aber kapsellosen Stäbchen. Schichtung und Loslösung der Kapseln vom Rande und vom Zellleibe nur ganz vereinzelt. Bambusformen sehr zahlreich.

4) Stamm II (Merck-Halle). 4 Monate alte Schrägagarkultur. Eine Oese auf 2,0 ccm 4 Tage alten Kaninchenserums.

Nach 14 Stunden: Die meisten noch satt blau und gleichmäßig gefärbten Stäbchen nur 2—4-gliederig, die längsten Fäden höchstens 20-gliederig. Kapselbildung bei fast allen Stäbchen in Form eines schmalen, einfachen, dunkelrot gefärbten Randes. Verbindungsringe innerhalb von Kapseln und auch zwischen kapsellosen Gliedern deutlich erkennbar. An einigen Stäbchen und Fäden fehlt noch jede Spur von Kapselbildung.

5) Stamm I. 14-stündige Agarkultur. Eine Oese auf 2,0 ccm 3-tägigen Kaninchenserums.

Nach 0 Minuten: Schön satt und gleichmäßig blau gefärbte Fäden, ohne Kapseln und ohne Sporen.

Nach 15 Minuten: Zwischen einigen Gliederenden blaßrot gefärbte Verbindungsringe erkennbar, ähnlich wie im Hammelserum. An ganz wenigen Stäbchen zeigt der Seitenrand einen rosaroten Schimmer.

Nach 40 Minuten: An den meisten Stäbchen ein ganz schmaler roter Saum. Die Verbindungslinien zwischen den Gliederenden und am freien Ende der Endglieder deutlich rot gefärbt. Viele Stäbchen und Fäden zeigen weder Verbindungsringe, noch eine Rotfärbung an den Seitenrändern.

Nach 6 Stunden: An den meisten Stäbchen eine etwa $^1/_2$—1-fache Kapsel deutlich erkennbar, ebenso die roten Ringe zwischen den einzelnen Gliedern. Deutliche Bambusformen. Die Zahl der satt und gleichmäßig gefärbten Stäbchen und 6—12-gliederigen Ketten ohne jede Spur von Kapselbildung ist größer als im Hammel- und Ziegenserum.

Nach 18 Stunden: Kapseln nur höchstens 1—1$^1/_2$-fach. Rote Verbindungslinien an sonst kapsellosen Stäbchen und auch innerhalb der Kapseln deutlich erkennbar. Viele Bambusformen. Die Zahl der ganz kapsellosen Stäbchen größer als nach 6 Stunden.

Nach 24 Stunden: Alle bisher beschriebenen Entwickelungsstufen der Kapseln. An zahlreichen Kapseln Loslösung und Schichtung, sowie formlose Massen in der Umgebung des Kapselrandes. Bambusformen bedeutend weniger als nach 18 Stunden, dagegen viel größer die Zahl der kapsellosen Stäbchen. Einige kurze Stäbchen, sowie 12—20-gliederige Ketten zeigen frisch gebildete, schön rot gefärbte 1—$1^1/_2$-fache Kapseln mit dunkelrotem Rande.

Nach 48 Stunden: Kapseln nur ganz vereinzelt, ebenso Bambusformen. Schichtung, Ablösung und körniger Zerfall am Rande der Kapseln weiter vorgeschritten als nach 24 Stunden. Die Anzahl der Stäbchen und Ketten ohne Kapseln bedeutend größer. Manche kapsellose Ketten 60—80-gliederig. An einzelnen kapsellosen und Kapselstäbchen Sporenbildung bemerkbar, aber noch keine freien Sporen.

Nach 72 Stunden: Kapselstäbchen sind überhaupt nicht mehr zu finden, nur lange, schöne, bis 100-gliederige, meist satt und gleichmäßig blau gefärbte Ketten. Sporen in den Stäbchen zahlreicher; ebenso freiliegende Sporen vorhanden. Kapselstäbchen lassen sich nach keiner der bekannten Färbevorschriften darstellen. 0,1 ccm nach Erwärmung auf 80° ergibt auf der Agarplatte 6000 Keime, und ohne Erwärmung 60000 Keime. Auf die weiteren Versuche mit dieser Kaninchenserum-Kultur komme ich noch später zurück.

6) Stamm I. Kochsalzaufschwemmung einer 72 Stunden alten, 3 Minuten auf 80° erwärmten Schrägagarkultur in 2,0 ccm 3 Stunden alten inaktivierten Kaninchenserums.

Nach 0 Minuten: Nur Sporen.

Nach 24 Stunden: Lange, bis 80-gliederige Fäden mit 1—2-facher, schön rot gefärbter Kapsel, die an den kurzen Stäbchen und Fäden besser gefärbt ist als an den langen. Zahlreiche Bambusformen. Verbindungsringe zwischen den Gliedern innerhalb der Kapseln und auch an Ketten, die sonst eine Kapselbildung noch nicht aufweisen. Schichtung, Ablösung und körniger Zerfall der Kapseln deutlich zu sehen. Die Zahl der Stäbchen und langen Ketten ohne jede Spur von Kapselbildung ebenso zahlreich wie beim vorigen Versuch nach 24 Stunden.

7) Stamm V. Kochsalzaufschwemmung einer 7 Tage alten, 3 Minuten auf 80° erwärmten Schrägagarkultur in 2,0 ccm 2 Tage alten Pferdeserums.

Nach 0 Minuten: Nur Sporen.

Nach 5 Stunden: Sporenkeimung wie im Hammelserum (Versuch 1), daneben schon 4—6-gliederige, satt gefärbte Kapselstäbchen. Kapsel höchstens 2mal so breit wie das Stäbchen selbst. Rand der Kapseln satt rot, meist etwas wellig verlaufend.

Nach 24 Stunden: An den kurzen Stäbchen ist die Kapsel breiter und satter gefärbt als an den längeren Fäden, die höchstens 20—30 Glieder aufweisen. Schichtung, Loslösung und bröckeliger Zerfall an vielen Kapseln deutlich bemerkbar. Rote Verbindungslinien zwischen den Gliederenden innerhalb der Kapsel deutlich zu sehen, aber nicht so zahlreich, ebenso die Anzahl der nur mit Verbindungsringen versehenen Fäden. Anzahl der Stäbchen und Fäden, die überhaupt noch keine Spur von Kapselbildung zeigen, zahlreicher als im Hammelserum.

Nach 48 Stunden: Die Fäden sind nicht viel länger als nach 24 Stunden. Zahl der kapsellosen Stäbchen und Fäden größer, ebenso die Anzahl der 6—10-gliederigen, tief rotgefärbten neugebildeten Kapseln, daneben alle bisher beschriebenen Uebergangsformen. Rückbildung der Kapseln, Schichtung, Loslösung und körniger Zerfall am Rande stark auftretend. Sporenbildung noch nicht bemerkbar.

Nach 72 Stunden: Alle bisher beschriebenen Formen. Die Fäden sind höchstens 30-gliederig; die Zahl der kurzen, satt rotgefärbten (neugebildeten) Kapseln geringer als nach 48 Stunden. Kapsellose Stäbchen und Fäden nicht so zahlreich wie im Kaninchenserum. Sporenbildung bemerkbar, mehr in Kapselstäbchen als in kapsellosen. 0,1 ccm 3 Minuten auf 80° erwärmt, ergibt auf der Agarplatte 6000 Keime, und 0,1 ccm ohne Erwärmen 80000 Keime.

8) Stamm V. Kochsalzaufschwemmung einer 7 Tage alten, 3 Minuten auf 80° erwärmten Schrägagarkultur in 2,0 ccm 2 Stunden alten Meerschweinchenserums.

Nach 0 Minuten: Nur Sporen.

Nach 5 Stunden: Fäden und Kapselstäbchen noch nicht zu sehen, sondern nur höchstens 2-gliederige Keimlinge, wie beim Hammelserum beschrieben.

Nach 24 Stunden: Die Ketten höchstens 20-gliederig, mit kaum 1½-fachen, schön rotgefärbten Kapseln; Verbindungsringe zwischen den Gliederenden innerhalb der Kapseln, sowie auch an kürzeren Fäden ohne Kapseln. Bambusformen sehr schön ausgebildet. Kurze Stäbchen und bis 16-gliederige Ketten, satt und gleichmäßig blau gefärbt, ohne jede Spur von Kapselbildung.

Nach 48 Stunden: Kapselbildung nicht weiter vorgeschritten; Kapsel meist nur ebenso breit wie das Stäbchen selbst. Schichtung, Loslösung und körniger Zerfall am Rande der Kapseln deutlich wahrnehmbar. Zahl der kapsellosen Stäbchen bedeutend größer als nach 24 Stunden.

Nach 72 Stunden: Kapselstäbchen nur in geringer Anzahl, sowohl frisch gebildete, noch satt rotgefärbte, als auch schon geschichtete, losgelöste und bröckelig zerfallende Kapseln.

9) Stamm V. Kochsalzaufschwemmung einer 7 Tage alten, 3 Minuten auf 80° erwärmten Schrägagarkultur in 2,0 ccm 2-tägigen Schweineserums.

Nach 5, 24, 48 und 72 Stunden: Im wesentlichen dieselben Befunde wie beim Meerschweinchenserum. Auch hier erreicht die Kapsel höchstens die 1½-fache Breite des Stäbchenleibes. Nach 72 Stunden ist die Anzahl der kapsellosen Stäbchen bedeutend größer als die der bekapselten.

10) Stamm I. 14 Stunden alte Schrägagarkultur. Eine Oese auf 2,0 ccm einer 5 Tage alten Bauchflüssigkeit eines wegen Bauchwassersucht getöteten Hundes.

Nach 0 Minuten: Gleichmäßig und satt blau gefärbte Stäbchen. Sporenbildung in einigen Stäbchen angedeutet.

Nach 10 Minuten: Kapselbildung noch nicht bemerkbar, weder am Rande noch zwischen den einzelnen Gliedern.

Nach 20 Minuten: Zwischen den Gliederenden schwach rot gefärbte Ringe. An den Seitenrändern noch keine Spur von Rotfärbung.

Nach 30 Minuten: Verbindungsringe zwischen den Gliederenden zahlreicher und schön rot gefärbt. Die Seitenränder vieler Stäbchen zeigen einen rötlichen Schimmer.

Nach 1½ Stunden: Große, satt rot gefärbte Ringe zwischen den einzelnen Gliedern, ebenso an den freien Enden der Endglieder der Ketten. An den Seitenrändern der meisten Stäbchen und Ketten eine dunkelrote Kapsel deutlich erkennbar, die sich vielfach auch schon über die Verbindungsringe hinwegzieht. Bambusformen recht zahlreich. Vereinzelte kurze Stäbchen und Ketten weisen noch keine Spur von Kapselbildung auf.

Nach 5 Stunden: Kapseln 2—3-fach an den meisten Stäbchen und Fäden. Die Zahl der Kapsellosen ist jedoch größer als nach $1^1/_2$ Stunden.

11) Stamm III. 8-tägige Schrägagarkultur. Eine Oese auf 2,0 ccm 3 Stunden alten Taubenserums.

Nach 0 Minuten: Fast nur Sporen, darunter einige blau oder mattrosa gefärbte.

Nach 24 Stunden: Die meisten Stäbchen und Fäden mit 2—3-facher Kapsel ausgestattet. Schöne Bambusformen. An einigen Stäbchen schon Schichtung, Loslösung und bröckelige Massen am Kapselrande bemerkbar. Zahl der kapsellosen Stäbchen und Fäden verhältnismäßig gering.

12) Stamm III. 7 Tage alte Schrägagarkultur. Eine Oese auf 2,0 ccm 2 Tage alten Hühnerserums.

Nach 0 Minuten: Fast nur Sporen. Einige davon blau oder schwach rot gefärbt.

Nach 5 Stunden: Zahlreiche Keimlinge, wie beim Hammelserum beschrieben. Daneben 6—10-gliederige Fäden mit 2—4-facher Kapsel.

Nach 24 Stunden: Lange Ketten bis 80-gliederig, mit 2—4-facher Kapsel, darin Verbindungsringe zwischen den einzelnen Gliedern deutlich hervortretend; wenige kürzere und längere Ketten, welche nur Verbindungsringe und noch gar keinen oder nur einen schwachen roten Schimmer am Rande zeigen. Schöne Bambusformen. Schichtung, Loslösung und bröckeliger Zerfall der Kapseln schon vielfach bemerkbar. Daneben zahlreiche Stäbchen und lange bis 60-gliederige Ketten, ohne jede Spur von Kaspelbildung.

Nach 48 Stunden: Zahl der kapsellosen, langen Ketten und kurzen Stäbchen bedeutend größer. Alle Entwickelungsstufen der Kapselbildung. Auch 4—8-gliederige, satt rot gefärbte (neugebildete) Kapseln sind vielfach zu sehen. Sporenbildung in den Kapselstäbchen und auch in den kapsellosen Stäbchen deutlich bemerkbar, ebenso freie Sporen. 0,1 ccm 3 Minuten auf 80° erwärmt ergibt auf der Agarplatte zahllose Keime.

13) Stamm I. 14-stündige Schrägagarkultur. Eine Oese auf 2,0 ccm 2 Stunden alten Hühnerserums.

Nach 0 Minuten: Nur Stäbchen, satt und gleichmäßig gefärbt; an einigen Sporenbildung bemerkbar.

Nach 5 Stunden: Lange Ketten und Fäden fast sämtlich mit 2—4-facher Kapsel; an anderen Fäden sind nur rote Verbindungsringe zwischen den einzelnen Gliedern, oder nur diese und ein schwacher roter Saum am Rande bemerkbar. Zahl der kapsellosen Stäbchen verhältnismäßig gering; längere Fäden ohne jede Spur von Kapselbildung nicht bemerkbar.

14) Stamm I. Hammelserumkultur aus Sporen-Einsaat nach 14 Stunden ausgeschleudert. Eine Oese auf 2,0 ccm Bouillon.

Nach dem Ausschleudern: Die meisten Fäden und Stäbchen mit schönen 2—4-fachen Kapseln ausgestattet. Zahlreiche Bambusformen. An einigen Ketten nur rote Verbindungsringe zwischen den einzelnen Gliedern, aber noch gar keine oder nur schmale Rotfärbung am Rande. Kapsellose Stäbchen in geringer Anzahl.

Nach 1 Stunde: Zahl der kapsellosen Stäbchen bedeutend größer. An den bekapselten Stäbchen ist die Kapsel höchstens $1—1^1/_2$ mal so breit als das Stäbchen selbst. Loslösung und bröckeliger Zerfall der Stäbchen am Rande stark auftretend, aber eine Schichtung der Kapseln nicht bemerkbar. Der Rand vieler Kapseln ist wegen der bröckeligen Massen nicht mehr deutlich erkennbar. An vielen Ketten sind von der

Kapsel nur noch die Verbindungsringe zwischen den einzelnen Gliedern, aber noch recht satt gefärbt, verblieben. An einigen Ketten sieht man häufig nur noch an den freien Enden der Endglieder ganz oder halb geschlossene rote Ringe.

Nach 6 Stunden: An den Seitenrändern der Stäbchen und Fäden ist die Kapsel nicht mehr darstellbar; nur die roten Verbindungsringe sieht man noch an mehr oder weniger zahlreichen Ketten, bald nur vereinzelt, bald noch zwischen sämtlichen Gliedern, entweder noch satt rot oder nur schwach rosa gefärbt. In der Umgebung einzelner kapsellosen Stäbchen und Ketten sieht man noch bröckelige, körnige oder verschwommene, formlose Massen.

Nach 24 Stunden: Eine Kapsel läßt sich weder nach Klett, noch nach Olt, noch mit Kristallviolett färberisch darstellen. Im hängenden Tropfen zeigen die Stäbchen und Fäden einen schmalen, stark lichtbrechenden, scharf begrenzten Saum.

Aus den angeführten und zahlreichen anderen Versuchen geht, in Uebereinstimmung mit den Angaben anderer Forscher, hervor, daß die Kapselbildung in keinem Serum fehlt. Sehr breite und massenhafte Kapselbildung findet man im Serum vom Hammel, von der Ziege, vom Rind, vom Hunde, von der Taube und vom Huhn. Das sind aber gerade diejenigen Sera, die nur geringe milzbrandfeindliche Eigenschaften besitzen. Man könnte annehmen, daß die Milzbrandstäbchen, die bekanntlich nur im lebenden Zustande Kapseln bilden, in dem Serum von diesen Tieren deswegen so üppige Kapseln bekommen, weil sie hier mehr Zeit haben, in ihrer vollen Lebensfrische ungestört Kapseln zu entwickeln. Diese Annahme wird noch durch die Tatsache unterstützt, daß in dem stark milzbrandfeindlichen Serum des Kaninchens die Kapselbildung nur im geringen Umfange auftritt und fast ebenso schwach im Serum des Pferdes und des Meerschweinchens, denen ebenfalls mehr oder weniger starke milzbrandfeindliche Wirkungen zukommen. Gegen diese Annahme spricht jedoch der Umstand, daß im Serum der letztgenannten Tiere die Kapselbildung auch dann nicht üppiger auftritt, wenn das Serum vorher inaktiviert wird, so daß die Milzbrandstäbchen sich dann ungestört entwickeln könnten, und ferner der Umstand, daß im Schweineserum, das fast gar keine milzbrandfeindlichen Eigenschaften besitzt, sich die Kapselbildung nur in geringen Grenzen hält, sowohl im aktiven wie im inaktivierten Serum. Es müssen daher bei der Kapselbildung im Serum der verschiedenen Tiere auch noch andere Einflüsse eine Rolle spielen, die zu ihrer milzbrandfeindlichen Kraft nicht in Beziehung stehen. Auch der Grad der Empfänglichkeit der Tiere steht in keinem Zusammenhange mit dem Grade und mit der Schnelligkeit der Kapselbildung in ihrem Serum, denn im Serum unempfänglicher Tiere, wie des Hundes, des Huhnes und der Taube, sieht man ebenso breite Kapseln wie im Serum des leicht empfänglichen Hammels und Rindes, und im Serum des leicht empfänglichen Kaninchens und Meerschweinchens bilden sich nur ebenso schmale Kapseln wie im Serum des schwer empfänglichen Schweines. Dahingegen findet man eine gewisse Uebereinstimmung der Kapselbildung im Serum (im Glase) und innerhalb des lebenden Körpers einer und derselben Tierart. Von Tschernogoreff (94a), Schmidt (91a), Bail (8), Preisz (84) u. a. ist darauf hingewiesen worden, daß auch in ganz frischem Blute von an Milzbrand eingegangenen Schweinen, Meerschweinchen, Kaninchen und Pferden die Kapseln nur schwach entwickelt, ja oft gar nicht nachweisbar sind. Diese Angaben kann ich auf Grund meiner jahrelangen Beobachtungen als Leiter der hiesigen Milzbranduntersuchungsstelle im Landeshause voll und ganz bestätigen. Besonders beim Schwein, dann beim Kaninchen und Meerschweinchen, dann beim Pferd habe ich in der Regel nur ganz schwach entwickelte oder gar keine Kapseln an den Milzbrandstäbchen nachweisen können. Dahingegen gelang mir fast regelmäßig der Nachweis von breiten und sehr gut färbbaren Kapseln bei der Maus, beim Schaf und beim Rinde. Bei meinen jetzigen Versuchen habe ich auch feststellen können, daß im Serum der genannten Tiere sich die Kapselbildung ebenso verhält. Da demnach zwischen der Ausgiebigkeit und der Schnelligkeit der Kapselbildung im Serum und im Körper der einzelnen Tiere einerseits und mit der Empfänglichkeit der Tiere oder mit der milzbrandfeindlichen Kraft seines Serums andererseits irgendein Zusammenhang nicht zu finden ist, so drängt sich unwillkürlich die Frage auf, ob denn überhaupt der Milzbrandkapsel in dem Kampfe mit dem Serum im Glase oder mit dem lebenden Tierkörper eine wesentliche Rolle zukommt, oder ob die Kapselbildung nicht vielmehr eine für den Ausgang des Kampfes nebensächliche Erscheinung ist, die lediglich von bestimmten Eigenschaften des Serums oder der Körpersäfte abhängt, die ihnen unabhängig von den milzbrandfeindlichen Kräften innewohnen. Auf diese Frage komme ich noch später zurück. Vorher muß ich auf die Kapselbildung selbst etwas näher eingehen.

Wenn man Sporen in ein Serum einsät, so kann man beobachten, daß die jungen Keime fast alle mit einer Kapsel versehen herauskommen. Daher läßt sich die Kapselbildung an aus Sporen auskeimenden Stäbchen nicht so gut verfolgen als an schon fertigen kapsellosen Stäbchen. Der Beginn der Kapselbildung gibt sich zuerst dadurch zu erkennen, daß in nach Klett gefärbten Ausstrichen zwischen den einzelnen Gliedern des Milzbrandstäbchens halbkreisförmig nach außen hervorgewölbte Verbindungslinien auftreten, die immer breiter werden und sich immer mehr und mehr rot färben. Dann erst sieht man an den Seitenrändern der Stäbchen einen schwach rot gefärbten Saum, der ebenso wie die Verbindungslinien immer breiter und breiter wird und den roten Farbstoff auch immer gieriger aufnimmt. Aus diesem Vorgange kann man wohl, wie auch allgemein angenommen wird, schließen, daß die Kapselbildung in einer Quellung und stofflichen Veränderung der Stäbchenhülle besteht, die das Milzbrandstäbchen auch sonst besitzt. Daß es sich tatsächlich um eine Quellung handelt, geht meines Erachtens aber besonders aus dem Umstande hervor, daß die Kapsel sich zuerst an denjenigen Stellen nachweisen läßt, wo für die Quellung der Zellhülle der größte Raum zur Verfügung steht, nämlich zwischen und an den Enden der einzelnen Glieder. An den Seitenrändern des Stäbchens setzt sich der Quellung zuerst noch die äußere starre Schicht der Zellhülle entgegen. Durch den Umstand, daß die zwischen den Stäbchenenden gequollene Kapsel in gefärbten Ausstrichen die Form eines Ringes, in Wirklichkeit also die Form einer Kugel zeigt, deren Durchmesser größer ist als der Querdurchmesser des Stäbchens, erscheinen die einzelnen Glieder an ihren Enden zunächst dicker als in der Mitte. Wenn nachher die ganze Milzbrandkette auch an den Seitenrändern eine Kapsel zeigt, die später auch die Ringe von außen her überzieht, so bleiben die zuerst gebildeten Ringe doch noch sichtbar, und daher erscheinen auch in langen Kapselfäden die einzelnen Glieder innerhalb der Kapsel an ihren Enden stärker als in der Mitte. Das sind die Bambusformen, die nicht nur an kapsellosen, sondern auch an Kapselstäbchen vorkommen und von verschiedenen Forschern beschrieben worden sind. Nach meinen Beobachtungen kann ich aber der Ansicht von Preisz (81) nicht beitreten, der die Bambusformen dadurch entstehen läßt, daß einmal gerade die Sporen bildenden Enden der Milzbrandstäbchen zur Kapselbildung besonders neigen und dann, daß beim Wachstum des Kapselstäbchens innerhalb seiner Kapsel letztere eine Dehnung erfährt, die gerade in der Mitte des Stäbchens stärker ist als an den Enden. Ich habe nämlich Bambusformen schon bei ganz jungen Stäbchen, die kaum einige Stunden alt waren, beobachtet, und bei denen daher an eine Sporenbildung noch nicht zu denken war. Andererseits habe ich mich auch nicht davon überzeugen können, daß die Kapseln beim Wachstum der Stäbchen immer nur gerade in der Mitte der Glieder schmäler als an den Enden werden, und daß demnach die welligen Kapseln immer so regelmäßig auftreten, daß der Wellenberg dem Ende und das Wellental der Mitte des Stäbchens entspricht, wie Preisz angibt. Wenn der Kapselrand überhaupt von der geraden Linie Abweichungen zeigt, dann sieht man ihn oft auch an den den Gliederenden entsprechenden Stellen nach innen eingezogen, und trotzdem zeigen auch solche Stäbchen innerhalb der Kapsel ausgesprochene Bambusformen. Die Kapseln sind in der Regel überhaupt nicht so regelmäßig gewellt, wie es Preisz angibt. Häufig genug sieht man lange Fäden, deren Kapsel fast ohne jede Einbiegung in ganz gerader oder regelmäßig gebogener Richtung verläuft. Ein andermal findet man die Einbiegungen nach innen nicht an den Mittelstücken der Glieder, sondern gerade an den Gliederenden, entweder an jedem oder erst hinter jedem zweiten, vierten oder erst sechsten Gliede des Stäbchens. Es sieht dann so aus, als ob 2, 4 oder 6 Glieder einer und derselben Kette ihre eigenen Kapseln besäßen, die nur mit ihren Enden zusammenhängen. Solche Kapselabschnitte sind auch nicht immer gleich breit und auch nicht immer gleich stark gefärbt. In der Regel verlaufen die Wellenlinien aber ganz unregelmäßig, ohne irgendwelche Beziehungen zu den Mittelstücken oder zu den Enden der einzelnen Glieder, häufig auch noch an der einen Seite der Kette ganz anders als an der anderen. Ich habe daher bei meinen Beobachtungen überhaupt nicht den Eindruck gewonnen, daß die Wellentäler an den Kapselstäbchen dadurch entstehen, daß beim Wachstum des Stäbchens innerhalb der Kapsel eine Dehnung der letzteren an einer bestimmten Stelle eintritt und daß dadurch diese Stelle verschmälert wird. Vielmehr habe ich die Ueberzeugung gewonnen, daß die Wellenlinien an den Kapseln nicht auf eine Dehnung, sondern im Gegenteil auf eine Quellung und darauf zurückzuführen sind, daß die Quellung der Kapseln schneller vor sich geht als das Wachstum der Stäbchen innerhalb der Kapseln. Die quellende Masse der Kapsel kann sich wegen ihres Zusammenhanges mit den Stäbchen nicht in die Länge ausdehnen, daher buchtet sie sich nach der Seite aus und erzeugt so am Rande unregelmäßige Wellenlinien. Denn wie anders sollte man es erklären, daß gerade die längsten Ketten, die doch nur durch schnelle Vermehrung der Stäbchen entstanden sind, in der Regel fast ganz geradlinige oder doch nur sehr schwach gebogene Kapselränder zeigen, und daß die kurzen Stäbchen und Fäden fast regelmäßig wellige Kapseln aufweisen. Diese Zustände können demnach nicht durch Dehnung entstehen, sondern sie können nur in der Weise erklärt werden, daß trotz derselben Bedingungen, unter denen die Stäbchen sich befinden, immer einzelne

Glieder der Quellung ihrer Hülle eine mehr oder weniger lange Zeit oder auch dauernd widerstehen. Deshalb findet man auch schon in jungen Serumkulturen Milzbrandstäbchen, die eine färberisch darstellbare Milzbrandkapsel noch nicht zeigen. So sind auch nur die verschiedenen Entwickelungsstufen der Kapsel zu verstehen, die man an einzelnen Abschnitten einer und derselben Kette beobachten kann: Fast in jeder Serumkultur findet man längere Ketten, bei denen 2 bis 4 oder auch bis 10 Glieder in einer schönen breiten Kapsel liegen, die nächstfolgenden Glieder zeigen aber erst rote Ringe zwischen den einzelnen Gliedern, dann folgt wieder ein Abschnitt, der schon eine schmale Kapsel an den Rändern aufweist, dann wieder ein Abschnitt mit schönen breiten Kapseln usw. Auch vollständig kapsellose Abschnitte kann man an solchen Ketten beobachten, so daß man häufig an einer und derselben Kette sämtliche Entwickelungsstufen der Kapsel, vom ganz kapsellosen bis zum vollgekapselten Stäbchen, durcheinander vorfinden kann.

Verfolgt man das weitere Schicksal der Kapseln an lebenden, nicht abgestorbenen Milzbrandstäbchen, so kann man sich überzeugen, daß sie nach kurzer Zeit, oft schon 8—10, in der Regel aber erst 12—14 Stunden und später, selten schon etwas früher, weitere Veränderungen erfahren, die ganz entschieden als eine Rückbildung oder als ein Zerfall der Kapseln aufgefaßt werden müssen. Der dunkel gefärbte Rand, der allmählich in die hellere, ganz gleichmäßig gefärbte Innenschicht der Kapsel überging und etwas wellig oder gerade verlief, aber scharf und glatt begrenzt war, beginnt rauh zu werden, wie zerfetzt. Es treten in ihm sowie in seiner Umgebung dunkel gefärbte formlose Körner und Massen auf, deren Zahl und Größe immer mehr und mehr zunimmt. Die äußere Begrenzung der Kapsel ist nicht mehr so scharf und gleichmäßig wie zu Anfang. Auch zwischen der innersten Schicht der Kapsel und dem Stäbchenleibe treten Zusammenhangstrennungen auf, die Masse der Kapseln schrumpft und bekommt deutliche Längsstreifung. An denjenigen Stellen der Stäbchenleiber, wo sich die Kapsel abgetrennt hat, tritt zwar oft neue Kapselbildung auf, die sich durch frischere Rotfärbung erkennbar macht, doch wird nach kurzer Zeit auch diese frisch gebildete schmale Kapsel wieder abgelöst; dadurch bekommt die inzwischen schon immer mehr geschrumpfte Kapsel eine noch stärkere Schichtung. Die Zahl der bröckeligen formlosen Körner am Rande der Kapseln nimmt dann zu, andere scheinen zu zerfließen, so daß sich wolkige Massen bilden, die an Stelle der früheren, schön rot gefärbten Kapseln treten und mit ähnlichen Massen der Nachbarstäbchen zusammenfließen. Man sieht dann einen rosaroten, mit dunklen formlosen Körnern durchsetzten Untergrund, in welchem die einzelnen Stäbchen und Ketten liegen, entweder mit einem ganz schmalen, etwas dunkler gefärbten roten Hofe umgeben oder auch völlig kapsellos. Diese Art der Auflösung der Kapseln kann man sehr gut verfolgen, wenn man Kapselstäbchen in Bouillon bringt. Auffallend ist es hier, daß die Kapseln an den Stäbchenenden, wo man sie in Form von roten Ringen zuerst sehen konnte, sich auch am längsten erhalten; man kann lange Stäbchenverbände beobachten, an deren Rande von einer Kapsel nichts mehr zu sehen ist, sondern nur ab und zu in mehr oder weniger großen Abständen ein roter Ring zwischen zwei Gliedern, oder auch nur an dem einen oder an beiden Endgliedern je ein roter Ring. Es gibt auch noch eine andere Art der Rückbildung der Kapseln: Die Kapsel nimmt den Farbstoff nicht mehr so gierig auf wie zu Anfang, der Rand erscheint nicht mehr so dunkel und die Innenschicht nur schwach rosa gefärbt; die Kapsel wird, ohne daß eine Streifung oder die Bildung von körnigen Massen auftritt, immer schmäler und schmäler, bis sie dann nur eine dünne Hülle darstellt, die schließlich, aber erst nach längerer Zeit, ihre Färbbarkeit vollständig verliert.

Gleichzeitig mit der Rückbildung der Kapseln sieht man aber an anderen Stäbchen immer wieder neue Kapseln auftreten, die sich durch ihre Breite, ihre starke Färbung, durch den dunkelroten Rand, an dem eine Körnerablagerung noch fehlt, und durch die gleichmäßige, nicht geschichtete Färbung sehr wohl von den in der Rückbildung begriffenen Kapseln unterscheiden lassen. Diese verschiedenen Stufen der Entwickelung und Rückbildung der Kapseln kann man nach 14—24 Stunden, aber auch noch nach 2—3 Tagen fast regelmäßig in jedem Serum beobachten. Ganz besonders schön habe ich die verschiedenen Kapselstufen im Pferdeserum gesehen. Auch nach 10—14 Tagen habe ich nicht nur in der Rückbildung begriffene, sondern auch ganz frisch gebildete, sattrot gefärbte Kapseln vorgefunden, allerdings nicht mehr in der großen Anzahl wie am ersten oder am zweiten Tage nach der Einsaat.

Hand in Hand mit der Rückbildung der Kapseln geht aber auch eine Zunahme der kapsellosen Stäbchen einher, die jedoch, wie ich schon wiederholt hervorgehoben habe, gleich von vornherein nie ganz fehlen. Im Rinderserum habe ich einmal nach 4 Tagen, und im Kaninchenserum nach 3 Tagen an den zahlreich entwickelten Stäbchen eine Kapsel färberisch überhaupt nicht mehr darstellen können, obwohl ich eine große Anzahl von Ausstrichen angefertigt und nach den verschiedensten Vorschriften gefärbt habe. Auf den letztgenannten Fall komme ich noch später zurück.

Wenn man die ganze Entwickelungsgeschichte der Kapsel im Serum von ihren ersten Anfängen bis zum Zerfall verfolgt, so bekommt man den Eindruck, daß die Milzbrandkapsel etwas Vergängliches ist. Nicht nur an den auskeimenden oder eingesäten Stäbchen, sondern auch an ihren nächsten Nachkommen entwickelt sie sich zuerst massenhaft; nur ganz vereinzelte Stäbchen bleiben davon verschont. Von den mit den Kapseln behafteten Stäbchen gehen viele zugrunde; die meisten werfen sie aber nach einiger Zeit ab, bleiben, wenn es sich um ein weniger stark abtötendes Serum handelt, leben, und die meisten von ihnen widerstehen der Bildung neuer Kapseln; ebenso ergeht es ihren Nachkommen. So bildet sich allmählich eine Kultur von Milzbrandstäbchen heraus, die der Aufquellung ihrer Hülle immer mehr und mehr Widerstand leisten, so daß man schließlich im Serum nur solche Milzbrandstäbchen vorfindet, die, ähnlich wie in Bouillon, fast ausnahmslos keine Kapseln mehr besitzen. Zieht man nun in Betracht, daß die Kapselbildung der Milzbrandstäbchen in einer Verquellung und in einer stofflichen Veränderung der Zellhülle besteht, und erwägt man, daß diese stoffliche Veränderung, wie Heim und Preisz unwidersprochen nachgewiesen haben, in einer schleimigen Entartung besteht, die für gewöhnlich doch immer als ein regressiver Vorgang, als ein Krankheitszustand aufzufassen ist, so wird man wohl der Auffassung von Bail beitreten können, daß die Kapselbildung bei den Milzbrandstäbchen einen „Krankheitszustand“ darstellt. Dieser Auffassung möchte ich mich anschließen und die Kapselbildung als eine Art Hautkrankheit des Milzbrandstäbchens auffassen, von der der Stäbchenleib selbst nur unwesentlich betroffen wird. Die Stäbchen sind bestrebt, diesen Krankheitszustand zu überwinden, was ihnen auch, wenn sie sich nur lebend erhalten, nach einer mehr oder weniger langen

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zeit gelingt. Nur ganz wenige Milzbrandstäbchen widerstehen dieser Erkrankung von vornherein und sind auch, wie die Stäbchen, die die Kapseln abgeworfen haben, imstande, diese Widerstandsfähigkeit auf eine große Anzahl ihrer Nachkommen zu übertragen. Solche Stäbchen wachsen dann ohne Kapseln, ebenso eine größere Anzahl ihrer weiteren Nachkommen. Trotzdem gelingt es aber den Einflüssen des Serums doch, unter den später auftretenden Stäbchen immer wieder eine gewisse Anzahl von Stäbchenhüllen zum Aufquellen zu bringen, so daß auch noch später fast regelmäßig wieder Stäbchen mit frisch gebildeten Kapseln vorgefunden werden.

Ist man aber zu dieser Auffassung gelangt, so wird man schwer verstehen können, warum es gerade die Kapsel sein soll, die das Milzbrandstäbchen gegen die milzbrandfeinlichen Kräfte des Serums und der Körpersäfte schützen soll, namentlich wenn man berücksichtigt, daß der Umfang und die Schnelligkeit der Kapselbildung weder mit dem Gehalt an milzbrandfeindlichen Stoffen im Serum noch mit der Empfänglichkeit bezw. Unempfänglichkeit des Tieres in irgendwelchem Zusammenhange steht, sondern daß die Kapselbildung ohne irgendwelche Beziehung zur Empfänglichkeit der Tiere und zur milzbrandfeindlichen Kraft des Serums bei der einen Tierart stets mehr, bei der anderen dagegen weniger zum Ausdruck kommt.

Wird dem Serum ein bei der Kapselbildung zur Verwendung kommender Stoff entzogen, und wird dieser Stoff erschöpft, so daß die Kapselbildung nach einiger Zeit nachläßt oder ganz ausbleibt, wie Preisz vorläufig nur annimmt? Meine nach dieser Richtung hin angestellten Versuche sind nicht zahlreich, doch scheinen sie diese Annahme nicht zu bestätigen. Unter anderem habe ich die schon erwähnte 72 Stunden alte Kaninchenserumkultur, in der ich nur kapsellose Stäbchen nachweisen konnte, ausgeschleudert und in dasselbe Serum frische Milzbrandsporen eines anderen Stammes eingesät. Nach 14 Stunden sah ich in dem Serum zahlreiche lange und kürzere Fäden, die fast sämtlich mit 1—1$^{1}/_{2}$-facher Kapsel ausgestattet waren; nur ganz wenige Stäbchen waren kapsellos, und die Anzahl der überhaupt vorgefundenen Milzbrandstäbchen war bedeutend größer, als man sie bei normalem gleichaltrigem Serum für gewöhnlich vorfindet. Diese Beobachtung scheint doch dafür zu sprechen, daß wohl die milzbrandfeindlichen Kräfte des Serums, nicht aber seine kapselbildenden Eigenschaften erschöpft waren. Weitere Versuche hierüber, insbesondere unter Verwendung desselben und anderer Stämme zu demselben Versuche, habe ich leider nicht vornehmen können.

Auch die aus der eben erwähnten Kaninchenserumkultur ausgeschleuderten kapsellosen Stäbchen habe ich nicht nur auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen anderes Kaninchenserum geprüft, worauf ich noch zurückkommen werde, sondern auch hinsichtlich der Kapselbildung im Serum eines anderen Kaninchens. Dabei konnte ich 13 Stunden nach der Einsaat feststellen, daß die Anzahl der vorgefundenen Kapselstäbchen wohl verhältnismäßig groß, aber doch bedeutend geringer war als bei der Einsaat von aus gewöhnlichen Agarkulturen gewonnenen Sporen. Es macht den Eindruck, als ob das einmalige Ueberstehen der „Kapselkrankheit“ eine gewisse Anzahl der Stäbchen und ihrer Nachkommen gegen die schleimige Entartung ihrer Hülle widerstandsfähiger macht, oder anders ausgedrückt, daß die Stäbchen, welche die kapselaufquellenden Eigenschaften des Kaninchenserums überwunden haben, diese Widerstandsfähigkeit ihrer Hülle einem anderen Kaninchenserum gegenüber nicht nur selbst bewahren, sondern auch an die Mehrzahl ihrer nächsten Nachkommen zu vererben imstande sind. Doch habe ich, wie erwähnt, auch diese Versuche leider nicht weiter fortsetzen können, weder mit dem Serum derselben Tierart, um den einen Versuch durch noch weitere zu bestätigen, noch auch mit dem Serum anderer Tierarten, um festzustellen, ob und wie weit diese Widerstandsfähigkeit auch gegenüber dem Serum einer anderen Tierart besteht. Ich glaube, daß Versuche nach dieser Richtung hin sehr viel dazu beitragen würden, das Dunkel, das über dem Wesen und der Bedeutung der Milzbrandkapsel immer noch lagert, zu lichten.

III. Die milzbrandfeindliche Wirkung des Serums.

Die Anordnung meiner Versuche mit Serum habe ich schon in der Einleitung eingehend erläutert und auch die Einwände besprochen, die dagegen gemacht werden können, so daß ich hier gleich mit der Wiedergabe meiner Versuche beginnen kann. Die Versuche mit Sporen, mit kapsellosen, sporenfreien Stäbchen, sowie mit Kapselstäbchen habe ich in der Regel zu gleicher Zeit und mit demselben Serum angestellt, um die erlangten Ergebnisse miteinander vergleichen zu können. Wenn ich aber trotzdem die Versuche mit den einzelnen Bildungsformen des Milzbranderregers hier gesondert bespreche, so geschieht es aus rein äußeren Gründen. Die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Kaninchenserums, mit dem ich umfangreichere Versuche angestellt habe, werde ich aber im Zusammenhange noch einmal besprechen.

a) Wirkung des Serums auf Milzbrandsporen.

Meine ersten Versuche mit Milzbrandsporen waren es, die mir infolge ihrer ganz unerwarteten Ergebnisse Veranlassung zu der bereits besprochenen näheren Untersuchung über die Keimung und die Neubildung von Sporen gegeben haben.

Die milzbrandfeindliche Wirkung des Kaninchenserums auf Milzbrandstäbchen war schon aus den Untersuchungen Buchners (20) bekannt. Ganz überraschend war es aber, als ich aus den ersten Versuchen ersah, daß sich diese Wirkung auch auf die sonst gegen äußere Einflüsse so widerstandsfähigen Milzbrandsporen erstreckte. Aus der Zusammenstellung No. 2 ist zu ersehen, daß frisches Kaninchenserum schon innerhalb 10 Minuten etwa die Hälfte der eingesäten Sporen vernichtet, und daß die Vernichtung dann noch weiter so rasche Fortschritte macht, daß etwa 1 Stunde nach der Einsaat nur noch einige wenige lebensfähige Keime zurückbleiben. Auffallend ist dabei die Tatsache, daß die Anzahl der nach 10 Minuten noch nicht abgetöteten Sporen nicht in gleichem Verhältnisse zur Größe der Einsaat steht, und daß auch später die Anzahl der lebensfähig gebliebenen Keime bei ganz großen Einsaaten verhältnismäßig kaum größer ist als bei kleineren Einsaaten. So sind z. B. nach 1 Stunde von 500 Sporen 10 Keime = 2,5 v. H., und von 30000 Sporen nur 40 Keime = 0,12 v. H., am Leben geblieben. Wenn dieser Unterschied auch nicht in allen Fällen so auffallend ist, sondern bei Verwendung anderer Stämme und des Serums von anderen Kaninchen auch bei größeren Einsaaten eine größere Anzahl von Keimen zurückgeblieben war, z. B. von 30000 Sporen 200 Keime = 0,7 v. H., und bei 60000 Sporen 300 Keime = 0,5 v. H., so kann man doch bei der Durchsicht der ganzen Zusammenstellung ersehen, daß die Anzahl der überlebenden Keime durchaus nicht in einem bestimmten Verhältnis zur

Einsaat steht, sondern daß auch bei großen Einsaaten es nur immer ganz wenige Keime sind, welche der vernichtenden Kraft des Kaninchenserums entgehen.

Zusammenstellung No. 2.

Einwirkung des Kaninchenserums (2 ccm in Glasröhrchen) auf Sporen bei 37° C.

Lfde. Nr.	Stamm No.	Alter des Serums	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach								Bemerkungen
				10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
1	I	2 Std.	500	350	150	10	10	1	0	0	0	
2	I	2 „	3 000	1 500	100	40	40	10	0	0	0	
3	I	2 „	15 000	6 000	200	100	100	25	10	0	0	
4	I	2 „	25 000	6 000	200	100	90	20	4	0	0	
5	I	2 „	30 000	10 000	3000	60	40	0	0	0	0	
6	III	2 „	30 000	15 000	600	240	200	15	10	0	0	
7	IV	2 „	60 000	30 000	1200	600	300	20	60	1000	∞	
8	I	4 „	60 000	30 000	1500	700	600	100	100	1500	∞	
9	I	24 „	600	300	150	30		5	0	0	0	
10	V	2 Tage	2 000 000						∞	∞	∞	
11	IV	4 „	12 000	8 000	1000	600		65	0	0	0	
12	I	4 „	20 000	12 000	4000	900	800	300	200	2000	∞	Dieses Serum besaß 1 Stunde nach dem Tode des Kaninch. sehr starke milzbrandfeindl. Kraft
13	V	11 „	6 000			200		20	10	400	8000	

Anmerkung. In den unter No. 4, 8 und 10 aufgeführten Fällen handelte es sich um 2, 3 bezw. 5 Tage alte Agarkulturen, die vor der Einsaat nicht auf 80° C erwärmt worden sind. In allen übrigen Fällen waren die Kulturen 3—14 Tage alt und wurden kurz vor der Einsaat 3 Minuten lang auf 80° C erwärmt, so daß hier nur Sporen und keine Stäbchen zur Einsaat gelangt sind.

Von den Keimen, die nach 1 Stunde noch lebensfähig sind, geht dann bis zur 5. Stunde noch eine weitere Anzahl zugrunde. Um diese Zeit läßt sich aber aus der Zahl der jetzt noch lebenden Keime die Größe der Einsaat auch nicht einmal annähernd schätzen, denn nach 5 Stunden waren z. B. von 30000 Sporen einmal gar keine mehr am Leben, ein anderes Mal von einer gleichen Einsaat 15 Keime, und von 60000 Sporen nur 20 Keime, während andererseits von 25000 Sporen ebenfalls 20 Keime, von 15000 Sporen sogar 25 Keime, von 500 Sporen 1 Keim und von 3000 Sporen sogar 10 Keime = 3,3 v. H. der Vernichtung noch nicht anheimgefallen waren. Diese merkwürdige Erscheinung kann nicht ausschließlich auf die wechselnde milzbrandfeindliche Kraft des Kaninchenserums zurückgeführt werden. Ich möchte vielmehr annehmen, daß es, wie ich auch schon bei der Sporenkeimung erwähnt habe, sowohl unter kleinen wie auch unter größeren Einsaaten immer nur einige wenige Keime gibt, die nicht nur hinsichtlich der Auskeimung, sondern auch hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit sich anders verhalten wie die große Masse der anderen Sporen.

Noch viel weniger im Einklang mit der Größe der Einsaat steht die Anzahl der im Kaninchenserum nach Verlauf von 24 Stunden noch lebend gebliebenen Keime. So war z. B. nach 24 Stunden von 30000 Sporen einmal überhaupt kein einziger Keim, das andere Mal 10 Keime der Vernichtung entgangen, aber ebenso 10 Keime von nur 15000 Sporen, 4 Keime dagegen nur von 25000 Sporen; im Verlauf der nächsten 48—72 Stunden sind dann aber auch noch alle diese Keime zugrunde gegangen.

Eine vollständige Vernichtung der Sporen durch frisches Kaninchenserum kommt nur bei verhältnismäßig geringer Einsaat zustande, bis etwa 50000 Sporen auf 0,1 ccm Serum. Bei 60000 Sporen ist die Abtötung schon unsicher. Geht man über diese Zahl hinaus, bis etwa 80000 oder 100000 Sporen, dann geht zwar auch die Vernichtung in der ersten Stunde schnell und massenhaft vor sich, es wird auch, ebenso wie bei kleineren Einsaaten, in der ersten Stunde die weitaus größte Mehrzahl der Keime abgetötet, es ist auch bis zu 24 Stunden meist noch eine weitere Abnahme der Keime bemerkbar, doch setzt von da ab schon meist eine Vermehrung der Keime ein. Immerhin kann man sich aber davon überzeugen, daß die Zunahme der Anzahl der Keime im Kaninchenserum zunächst nur langsam vor sich geht, weit langsamer als im Serum anderer Tiere und in Bouillon.

Nach meinen Versuchen möchte ich die Zahl der Sporen, die 0,1 ccm eines 2 Stunden alten Kaninchenserums völlig abzutöten vermag, auf etwa 50000 Keime annehmen. Die milzbrandfeindliche Kraft des Serums ist aber nicht nur wechselnd, sondern sie nimmt auch mit dem Alter des Serums ab; nach 4 Stunden ist sie nur wenig schwächer, wie ein Vergleich der laufenden No. 7 und 8 der Zusammenstellung No. 2 ergibt. Auch in 24 Stunden altem Serum waren noch, ähnlich wie in 2 Stunden altem, von 600 Sporen 5 Stunden nach der Einsaat nur noch 5, und 24 Stunden nach der Einsaat gar keine Keime mehr nachzuweisen. In 4 Tage altem Serum sind in einem Falle innerhalb 24 Stunden sämtliche 12000 Keime zugrunde gegangen, während in einem anderen 4 Tage alten Kaninchenserum, das 2 Stunden nach dem Tode des Kaninchens in 5 Stunden 20000 Keime vernichtet hatte, von 20000 eingesäten Sporen 5 Stunden nach der Einsaat noch 300 Keime, und 24 Stunden nach der Einsaat noch 200 Keime am Leben geblieben waren, die sich dann weiter vermehrten. Ein anderes Serum, das in frischem Zustande stark milzbrandabtötende Wirkung gezeigt hatte, hatte zwar bis zum 11. Tage viel von seiner milzbrandfeindlichen Kraft verloren, war aber dennoch imstande, 6000 Sporen innerhalb 5 Stunden bis auf 20 und innerhalb 24 Stunden bis auf 10 Keime zu vernichten. Es geht daraus hervor, daß die starke milzbrandabtötende Wirkung des bei 7 ° C im Eisschrank aufbewahrten Kaninchenserums mit der Zeit wohl eine Abschwächung erfährt, aber trotz längerer Aufbewahrung immer noch stärker wirkt als ganz frisches Serum von anderen Tieren. Diese Tatsache stimmt mit den Angaben Buchners (20) überein, nach denen Kaninchenserum noch nach 7 Tagen auf Milzbrandstäbchen eine zerstörende Wirkung ausübte, dagegen nicht mit den Angaben Nuttalls (69), welcher die milzbrandfeindliche Wirkung schon nach 8 Stunden verschwinden sah.

Ueber die Wirkung des Kaninchenserums auf Sporen habe ich in der Literatur nur ganz vereinzelte Angaben vorgefunden. Metschnikoff (65) gibt an, daß Kaninchenserum nicht imstande ist, die Auskeimung der Sporen und ihre weitere Entwickelung zu verhindern. Nach Pekelharing (74) wird ein Teil der Sporen im Kaninchenserum vernichtet, und Weil (96) hat beobachtet, daß Milzbrandsporen im Kaninchenserum bei 37 ° C schon nach kurzer Zeit ihre Widerstandsfähigkeit gegen eine Erwärmung auf 80 ° verlieren.

Obwohl mir nach meinen Versuchen über den Beginn der Sporenkeimung (vgl. Zusammenstellung 1) und nach den damit an den Sporen einhergehenden Veränderungen die ganz unerwartete und auffallend schnelle Wirkung des Kaninchenserums auf Milzbrandsporen erklärlich

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

schien, so habe ich trotzdem noch das Verhalten der Milzbrandsporen im Kaninchenserum einer eingehenden Untersuchung im hängenden Tropfen und in gefärbten Ausstrichen unterzogen, um festzustellen, ob zwischen den Ergebnissen des Plattenverfahrens und der mikroskopischen Untersuchung auch tatsächlich eine Uebereinstimmung besteht oder nicht. Im hängenden Tropfen konnte ich beobachten, daß die Milzbrandsporen im Kaninchenserum genau in derselben Weise und ebenso schnell mit der Keimung beginnen wie in Bouillon. Auch hier werden die Sporen mehr rund, verlieren ihren hellen, scharfen Rand, in der Mitte zeigt sich ein Kern, der sich dann gleichzeitig mit der Spore streckt; aber von da an wird die Verfolgung der Einzelheiten schwieriger. Der Kern und die Hülle der keimenden Spore verschwimmt immer mehr und mehr, es erscheinen in der Spore helle Punkte, die sich vergrößern, mit anderen zusammenfließen, und dann ist weiter nichts mehr von der Spore zu sehen, als ein rundliches Gebilde, das nur noch durch die Größe an die frühere Spore erinnert.

Auch in gefärbten Ausstrichen läßt sich der Beginn der Keimung sehr gut verfolgen. Die bis dahin gegen Methylblau widerstandsfähige Spore färbt sich nach kurzer Zeit schwachblau, in der Mitte zeigt sich ein dunkelblauer Kern, der Rand erhält einen rötlichen Saum, die Spore und der Kern werden rund, dann strecken sie sich wieder; jetzt ist der rote Saum und der Kern noch deutlich zu unterscheiden; aber dann gibt es keine deutlichen Bilder mehr. Die ganze Spore erscheint größer, ungleichmäßig bläulich oder auch rötlich gefärbt; ein Kern ist überhaupt nicht mehr wahrnehmbar, und schließlich sieht man nur noch Gebilde von der ursprünglichen Größe der Spore, die eine eigentümliche schwache Färbung zwischen blau und rot, aber keine Anzeichen ihres inneren Baues zeigen.

Durch diese Versuche konnte eine völlige Uebereinstimmung zwischen dem Plattenverfahren und der mikroskopischen Untersuchung festgestellt und die überraschend schnelle Abtötung der Milzbrandsporen durch Kaninchenserum mußte daher als erwiesene Tatsache hingenommen werden. Eine Schädigung der Sporen durch die vor der Einsaat vorgenommene Erwärmung auf 80° konnte, wie ich früher nachgewiesen habe, nicht in Frage kommen, denn die Vernichtung der vor der Einsaat nicht erwärmten Sporen (lfd. No. 4, 8 und 10 der Zusammenstellung No. 2) ging ebenso vor sich, wie bei den auf 80° erwärmten Sporen. Agglutination konnte, wie schon früher erwähnt, ebenfalls nicht in Frage kommen.

Das Pferdeserum (Zusammenstellung No. 3) steht dem Kaninchenserum am nächsten, doch ist seine milzbrandabtötende Kraft bei weitem

Zusammenstellung No. 3.

Einwirkung des Pferdeserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf Sporen bei 37° C.

Lfd. No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach 10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	Bemerkungen
1	I	2 Std.	1 000	1 000		600		10	18	500	∞	
2	IV	24 „	12 000	12 000	10 000	8 000		800	500	2000	∞	
3	I	24 „	50 000	50 000	45 000	40 000		600	200	1000	∞	
4	I	24 „	60 000	60 000		50 000		600	300	1800	∞	
5	V	2 Tg.	6 000			4 000		40	60	1000	∞	

nicht so stark wie die des Kaninchenserums, denn in keinem Fall habe ich eine vollständige Abtötung der Milzbrandsporen im Pferdeserum gesehen, auch nicht bei kleineren Einsaaten. Wodurch sich aber das Pferdeserum von dem Kaninchenserum am auffälligsten unterscheidet, ist, daß die Abtötung im Pferdeserum viel langsamer vor sich geht als im Kaninchenserum. Das ist um so merkwürdiger, als die Abtötung im Kaninchenserum mehr oder weniger gleichen Schritt hält mit dem Beginn der Sporenkeimung, wohingegen beim Pferdeserum, in welchem die Sporen fast ebenso schnell wie im Kaninchenserum zu keimen beginnen, die Vernichtung der Keime nur ganz langsam stattfindet. In den ersten 10 Minuten ist von einer Abtötung der Sporen noch nichts zu sehen, erst nach 40 Minuten macht sie sich bemerkbar. Um diese Zeit ist aber etwa nur $^1/_4$ der eingesäten Sporen vernichtet. Erst nach 5 Stunden ist die Abnahme der lebenden Keime bedeutender und entspricht etwa derjenigen, wie sie im Kaninchenserum schon nach 40 Minuten oder nach 1 Stunde einzutreten pflegt. Von da ab wird die Abtötung schon schwächer und unsicherer. Nach 24 Stunden hat die Anzahl der Keime einmal noch weiter abgenommen, das andere Mal machte sich schon eine geringe Vermehrung der Keime bemerkbar, der dann nach 48 Stunden eine bedeutende Zunahme der Keime folgte. Die Vermehrung geht aber auch jetzt noch so langsam vor sich geht, daß man noch von einer schwachen Entwicklungshemmung sprechen kann. Erst nach dieser Zeit kann man in der Regel eine ganz schnelle Vermehrung beobachten.

Dem Pferdeserum am nächsten steht das Serum des Meerschweinchens (Zusammenstellung No. 4). Auch hier tritt die milzbrandabtötende Kraft nur allmählich ein und erreicht etwa nach 5 Stunden ihren Höhepunkt. Die Wirkung selbst ist aber bedeutend schwächer als beim Pferdeserum. Nur etwa $^1/_3$ oder höchstens die Hälfte der eingesäten Sporen ist nach 5 Stunden vernichtet. Von da ab habe ich eine weitere Abnahme der Keime niemals bemerkt. Wenn auch die Keimung der Sporen im Meerschweinchenserum etwas langsamer vor sich geht als im Serum des Kaninchens und des Pferdes, so steht doch hier die Abtötung der Keime zeitlich hinter dem Beginn der Keimung ganz unverhältnismäßig weit zurück. Bei den anderen von mir untersuchten Tieren ist ebenfalls eine Gleichzeitigkeit in dem Beginn der Sporenkeimung und der milzbrandfeindlichen Wirkung des Serums nicht zu erkennen, denn obgleich im Serum der Ziege, des Schweines, des Hundes, des Huhnes und der Taube die Sporenkeimung sehr rasch einsetzt und im Serum des Rindes und des Hammels zwar schon etwas langsamer, aber doch fast ebenso schnell eintritt wie beim Meerschweinchen, so ist doch, wie aus dem Vergleich der in der Zusammenstellung No. 4 aufgestellten Versuche zu ersehen ist, im Serum dieser Tiere in den ersten Minuten von einer Abnahme der Keime noch nichts zu sehen. Nach 40 Minuten habe ich eine Abnahme der lebenden Keime in dem Serum dieser Tiere niemals feststellen können, und nach 5 Stunden war schon in allen Fällen eine Vermehrung zu erkennen; nur beim Schweineserum, mit dem ich allerdings nur einen einzigen Versuch angestellt habe, war die Anzahl der Keime nach 5 Stunden noch unverändert.

Zusammenstellung No. 4.

Einwirkung des Serums verschiedener anderer Tiere (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf Sporen bei 37 ° C.

Lfde No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach								Bemerkungen
				10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
				a) Rinderserum.								
1	I	24 Std.	3 000	3 000	3 000			6 000	∞	∞	∞	
2	V	2 Tag.	6 000			6 000		9 000	∞	∞	∞	
				b) Hammelserum.								
1	I	4 Tag.	600	600	600	600		900	∞	∞	∞	
2	V	2 „	6 000	6 000		6 000		12 000	∞	∞	∞	
				c) Ziegenserum.								
1	I	18 Std.	600	600	600	600		900	∞	∞	∞	
2	V	2 „	6 000	6 000		6 000		12 000	∞	∞	∞	
3	III	9 Tage	1 000	1 000	1 000	1 000		1 500	∞	∞	∞	
4	III	11 „	800	800	800	800		1 600	∞	∞	∞	
				d) Meerschweinchenserum.								
1	I	2 Std.	1 500	1 500	1 500	1 200		800	∞	∞	∞	
2	I	2 „	2 500 1)	2 400	2 200	1 000		800	∞	∞	∞	
3	V	2 „	6 000			6 000		4 000	∞	∞	∞	
				e) Schweineserum.								
1	V	2 Std.	6 000			6 000		6 000	∞	∞	∞	
				f) Taubenserum.								
1	III	3 Std.	30 000	30 000	30 000	30 000		50 000	∞	∞	∞	
				g) Hühnerserum.								
1	I	2 Std.	600	600	600	500		1 000	∞	∞	∞	
2	IV	2 „	12 000	12 000	12 000	12 000		25 000	∞	∞	∞	
3	III	8 Tag.	1 000	1 000	1 000	1 000		2 500	∞	∞	∞	
				h) Hundeserum.								
1	I	4 Tag.	1 000	1 000		1 000		1 500	∞	∞	∞	

b) Wirkung des Serums auf kapsellose, sporenfreie Milzbrandstäbchen.

Zu diesen Versuchen habe ich 12- bis 14-stündige, bei 37 ° C aus Sporen ausgekeimte Schrägagar- oder Bouillonkulturen verwendet, weil ich durch meine bereits angegebenen Versuche festgestellt habe, daß in derartigen Kulturen nur wenig Stäbchen im Zerfall begriffen sind, und die Anzahl der Sporen, wenn sie überhaupt vorhanden sind, nur sehr gering ist.

Das Kaninchenserum hat sich, wie bei den Sporen, so auch Milzbrandstäbchen gegenüber als am besten wirksam erwiesen (vgl. Zusammenstellung No. 5). Während aber das Kaninchenserum innerhalb der ersten 10 Minuten nur etwa die Hälfte der Sporen abtötet, bleiben von allen in 2 Stunden altes Kaninchenserum eingesäten Stäbchen nach 10 Minuten in der Regel nur noch einige wenige am Leben, und zwar bei kleinen Einsaaten, bis zu etwa 1000 auf 0,1 ccm Serum, nur noch 10 bis 20 Keime, und bei größeren Einsaaten, bis zu etwa 50 000 Keimen auf 0,1 ccm Serum, 100 bis 200 Keime. Jedoch gibt es nach dieser

---

1) 48-stündige Agarkultur, dieselbe wie in No. 1, jedoch vor der Einsaat nicht auf 80 ° C erwärmt.

Zusammenstellung No. 5.

Einwirkung des Kaninchenserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf kapsellose, sporenfreie Stäbchen bei 37 ° C.

Lfde No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach								Bemerkungen
				10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
1	I	1 Std.	8 000	300	100	30	6	0	0	0	0	
2	I	2 „	300	100	20	3	1	0	0	0	0	
3	IV	2 „	300	20	1	0	0	0	0	0	0	
4	III	2 „	500	10	2	0	0	0	0	0	0	
5	III	2 „	900	20	0	0	0	0	0	0	0	
6	IV	2 „	1 500	80	45	40	30	10	0	0	0	
7	I	2 „	2 000	120	8	0	0	0	0	0	0	
8	I	2 „	3 000	20	10	1	1	1	0	0	0	
9	III	2 „	4 500	200	50	2	2	0	0	0	0	
10	IV	2 „	1 000 000					500	200	8 000	∞	
11	I	4 „	50 000	600	150	100	80	0	0	0	0	
12	I	24 „	600	20	10	6	0	0	0	0	0	
13	V	3 Tag.	1 000 000					1200	1000	∞	∞	Dasselbe Serum wie bei Zusammenstellung No. 2, lfd. No. 12
14	I	4 „	20 000	600	250	150	145	50	50	400	∞	
15	I	5 „	1 000 000					5000	2000	10 000	∞	
16	III	2 Std.	30 000	2000	300	200	180	50	5	1	100	

Richtung hin auch häufig Abweichungen. In 3 Fällen erwies sich frisches Kaninchenserum bedeutend schwächer als sonst und zeigte auch eine ähnliche Wirkung wie Pferdeserum, d. h. die Abtötung trat nicht nur schwächer auf, sondern auch bedeutend langsamer, als man sonst beim Kaninchenserum zu beobachten gewohnt ist. Besonders deutlich trat diese Eigentümlichkeit bei dem unter lfd. No. 16 der Zusammenstellung No. 5 aufgeführten Serum auf, in welchem von 30000 eingesäten Stäbchen nach 10 Min. noch 2000 Keime entwickelungsfähig waren, und bei dem die Anzahl der Keime ähnlich wie im Pferdeserum noch bis zu 48 Stunden abnahm, ohne jedoch zur völligen Abtötung zu gelangen. Dann erst trat eine Vermehrung der Keime ein. Auch bei den Versuchen lfd. No. 1 und 2 war zwar die Abtötung in den ersten Minuten nicht so stark wie gewöhnlich, doch kam es hier zur vollständigen Vernichtung innerhalb 5 Stunden. Beim Versuch lfd. No. 6 war die Anzahl der Keime nach 10 Minuten noch verhältnismäßig groß (von 1500 Keimen 80 Keime), und von da ab ging auch die weitere Vernichtung der Keime nur ganz langsam, wie beim Pferdeserum vor sich, aber vollständig, so daß nach 24 Stunden keine lebenden Keime mehr nachzuweisen waren, ebenso wie beim Versuch No. 8. Regel ist, daß schon nach 40 Minuten sämtliche Keime abgetötet sind, und wenn nach dieser Zeit noch einige wenige Keime übriggeblieben sind, so sind sie nach 5 Stunden auch bei Einsaaten bis zu 50000 Keimen auf 1 ccm Serum bereits sämtlich vernichtet. Nur bei noch größeren Einsaaten findet man erst nach 24 Stunden in der Regel keine lebenden Keime mehr. Die milzbrandabtötende Wirkung des Kaninchenserums ist demnach so stark, daß man zur Beschaffung von Kulturen im aktiven Kaninchenserum entweder ein älteres Serum verwenden muß oder Einsaaten von mehreren Millionen Keimen auf 0,1 ccm, denn von 1 Million Stäbchen auf 0,1 ccm findet man nach 5 Stunden nur noch etwa 500, und nach 24 Stunden nur noch etwa 200 Keime, die sich erst von da ab vermehren (lfd. No. 10). Bei 24 Stunden altem

Kaninchenserum ist die Wirkung nur wenig abgeschwächt. Sie nimmt von da ab mit dem Alter noch immer mehr ab, ähnlich wie Milzbrandsporen gegenüber (lfd. No. 13—15), so daß ich hier darauf nicht weiter einzugehen brauche.

Daß Kaninchenserum Milzbrandstäbchen abtötet, ist eine bekannte Tatsache, die zuerst durch die Versuche von **Buchner** (20) festgestellt und dann durch **Pane** (72), **Conradi** (25), **Wilde** (99), **Bail** (3—9), **Gruber** und **Futaki** (46), **Preisz** (84) u. a. m. bestätigt worden ist. Die Versuche **Nuttalls** (69) kommen hier nicht in Frage, weil **Nuttall** Milzbrandstäbchen aus der Milz von Milzbrandmäusen verwandt, seine Versuche demnach nicht mit kapsellosen, sondern mit Kapselstäbchen angestellt hat.

Auf Grund meiner Versuche möchte ich aber folgende Tatsachen ausdrücklich hervorheben: Einmal die große Menge der Milzbrandstäbchen, die das Kaninchenserum zu vernichten imstande ist, dann den Umstand, den ich schon bei der Abtötung der Sporen erwähnt habe, daß nämlich die Anzahl der Keime, die nach einer bestimmten Zeit noch lebensfähig geblieben sind, nicht in einem bestimmten Verhältnis zur Menge der eingesäten Keime steht, sondern daß auch bei ganz großen Einsaaten immer nur einige wenige Keime am Leben bleiben, deren Anzahl nur verhältnismäßig wenig größer ist als bei kleinen Einsaaten. Schließlich habe ich noch darauf besonders aufmerksam zu machen, daß die Hauptmasse der eingesäten Stäbchen in der Regel schon innerhalb weniger (10) Minuten nach der Einsaat ihre Entwickelungsfähigkeit verliert.

Die letztgenannte Tatsache gab mir Veranlassung, die Veränderungen, welche in so kurzer Zeit mit den Milzbrandstäbchen vor sich gehen, unter dem Mikroskop weiter zu verfolgen. Die hierbei gemachten Beobachtungen stimmten bei allen meinen zahlreichen Versuchen so vollkommen überein, daß ich von der Wiedergabe der einzelnen Versuche Abstand nehmen und nur im Zusammenhange die Veränderungen beschreiben will. Zunächst war festzustellen, ob die durch das Plattenverfahren festgestellte sofortige Abnahme der Keime nicht durch Agglutination der Keime verursacht wird; zu diesen Zwecken verrieb ich 13-stündige Schrägagarkulturen in Kochsalz, Bouillon und Kaninchenserum und beobachtete sie im hängenden Tropfen. Die meisten Stäbchen und Fäden fand ich dabei einzeln, gesondert voneinander, besonders im Kochsalz und auch in Bouillon. Im Kaninchenserum war zwar ebenfalls die größte Mehrzahl der Stäbchen und Fäden einzeln gelagert, aber man sah daneben auch zahlreiche größere und kleinere Klumpen von in sich verschlungenen Fäden, sowie auch mehr oder weniger gestreckte Fäden, die zu zweien bis dreien dicht nebeneinanderlagen. Diese Beobachtung konnte ich aber bei meinen weiteren Versuchen nicht nur im aktiven Kaninchenserum, sondern auch im inaktivierten und in jedem anderen Serum machen, das solche milzbrandfeindliche Wirkungen wie das Kaninchenserum nicht besitzt. Da ich ferner während meiner Beobachtungen im hängenden Tropfen niemals eine Vergrößerung der Klumpen gesehen habe, so konnte, ebenso wie bei den Sporen, der Agglutination eine wesentliche Bedeutung nicht zugeschrieben werden.

Die Veränderungen, die an den Milzbrandstäbchen selbst im Kaninchenserum vor sich gehen, sind etwa folgende: Der bis dahin stark lichtbrechende, schmale Saum am Rande des Stäbchens quillt etwas auf, an der einen Stelle mehr, an der anderen weniger; er wird glasig. Das ganze Stäbchen erhält dadurch eine dickere, an einzelnen Stellen bauchig

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

aufgetriebene, an anderen wieder mit Einschnürungen und Einbuchtungen ausgestattete Form. Gleichzeitig werden die Grenzen zwischen den einzelnen Gliedern des Stäbchens undeutlich, es erscheinen helle Flecke in dem Stäbchen, die oft wie Sporen glänzen und sich von diesen nur durch ihre verschiedene Größe und durch ihre unregelmäßige Lagerung im Stäbchen unterscheiden. Diese Veränderungen treten sehr rasch auf, schon nach 10 Minuten sieht man nur noch wenige Stäbchen, die in ihrer ganzen Länge unversehrt sind. Nur hier und da findet man einzelne Stäbchen, oder an längeren Ketten auch einzelne kleine Abschnitte, die ihren ursprünglichen Bau noch zeigen. Im weiteren Verlaufe erscheint der ganze Inhalt des verquollenen Stäbchens wie geronnen und verschwommen, so daß dann nicht einmal Spuren der ursprünglichen Gliederung des Stäbchens zu erkennen sind.

Besser lassen sich die Veränderungen in nach Klett gefärbten Ausstrichen verfolgen. Nach 2 Minuten besitzen schon die meisten Stäbchen einen schwach rosaroten Schimmer am Rande, der besonders an den unregelmäßigen Ausbuchtungen deutlich hervortritt. Die einzelnen Glieder der Stäbchen sind meist noch deutlich voneinander zu unterscheiden, doch macht sich schon vielfach eine ungleichmäßige Färbung und körniger Zerfall bemerkbar. Nach 10 Minuten hat das ganze Stäbchen einen schwachroten Ton, der mehr dort hervortritt, wo an den einzelnen Gliedern Lücken auftreten. Die Enden der Stäbchen sind vielfach gar nicht mehr zu erkennen, die Gliederung macht sich an einzelnen Stellen nur dadurch kenntlich, daß an den Gliederenden die Blaufärbung stärker zu sehen ist als in der Mitte. Nur vereinzelte Stäbchen sind noch gleichmäßig tiefblau gefärbt. Nach 40 Minuten erscheinen die Stäbchen und Fäden als schwachrosa angehauchte, unregelmäßig verquollene und eingeschnürte Schläuche, in deren Inneren von einer Gliederung überhaupt nichts mehr zu erkennen ist. Man sieht nur unregelmäßig netzartig verlaufende, schwach blau gefärbte, aus einzelnen Körnern zusammengesetzte Linien, die mehr oder weniger große Maschen bilden. Die Gebilde sehen ähnlich aus wie unregelmäßig bauchig aufgetriebene, schwach rosarot gefärbte, durchsichtige Glaszylinder, die mit schwach blau gesprenkelter Watte oder Gaze vollgestopft sind; nur vereinzelte Stäbchen zeigen auch jetzt noch gleichmäßige Blaufärbung; die meisten befinden sich aber im Zerfall und zwar auf verschiedenen der angegebenen Stufen. Nach 5 Stunden sieht man nur rosa angehauchte, in ihrer Größe stark zurückgegangene Gebilde, die wie schwache Schatten der ursprünglichen Stäbchen aussehen. Bei ganz großen Einsaaten findet man aber noch vereinzelte, unbeschädigte Stäbchen, sowie sämtliche Zerfallsstufen.

Nach diesen Befunden, die den Ergebnissen des Plattenverfahrens vollkommen entsprachen, mußte auch die Tatsache als erwiesen angenommen werden, daß frisches Kaninchenserum die Hauptmasse der eingesäten Keime schon innerhalb der ersten 10 Minuten ihrer Lebensfähigkeit zu berauben imstande ist.

Das Pferdeserum steht auch bezüglich der Abtötung der kapsellosen Stäbchen dem Kaninchenserum am nächsten, unterscheidet sich aber auch hier ganz wesentlich von der Wirkung des Kaninchenserums dadurch, daß es in den ersten 10 Minuten etwa nur die Hälfte der eingesäten Stäbchen abtötet, und daß es ebenso wie bei der Wirkung auf Sporen, erst etwa innerhalb 5 Stunden seine größte Wirkung entfaltet. Bis zu 24 Stunden bleibt dann die Anzahl der Stäbchen annähernd die

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zusammenstellung No. 6.

Einwirkung des Pferdeserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf kapsellose, sporenfreie Stäbchen bei 37° C.

Lfde No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach 10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	Bemerkungen
1	I	2 Std.	160	100	90	60	60	30	30	300		
2	II	2 „	300	150	150	100	90	80	50	250		
3	III	2 „	1 500	1200	600	200	150	30	20	800		
4	I	24 „	500	250	200	150	100	15	15	200		
5	IV	24 „	10 000	6000	4000	2000	1500	200	200	5000		

gleiche wie nach 5 Stunden, dann erst tritt eine Vermehrung ein. Eine völlige Abtötung der Milzbrandstäbchen durch Pferdeserum habe ich im Gegensatz zu Preisz (84) niemals beobachtet, auch nicht in ganz frischem Serum und bei ganz kleinen Einsaaten, wie etwa bei 160 bis 300 Keimen auf 0,1 ccm Serum. Im übrigen verhalten sich die Einzelheiten bei der Abtötung der Milzbrandstäbchen durch Pferdeserum ebenso wie bei den Sporen, so daß sich ein näheres Eingehen auf diese Verhältnisse erübrigt.

Auch in dem Serum der anderen Tiere liegen die Verhältnisse, wie aus der Zusammenstellung No. 7 ersichtlich ist, ähnlich wie bei den Sporen. Das Serum des Meerschweinchens schließt sich auch hier in seiner Wirkung dem Pferdeserum an. Es wirkt aber nicht so kräftig wie dieses, und die nach 5 Stunden vorgefundene Anzahl der Keime bleibt nicht etwa auf derselben Höhe bis zu 24 Stunden, sondern sie ist dann schon bedeutend größer. Nur in einem einzigen Falle (lfd. No. 2 der Zusammenstellung) hatte das Serum eines Meerschweinchens, das bis zur 5. Stunde von dem Serum anderer Meerschweinchen in seinen Wirkungen keine wesentlichen Unterschiede gezeigt hatte, innerhalb 24 Stunden eine Einsaat von 900 Keimen auf 0,1 ccm völlig abgetötet, ein Ergebnis, das ich trotz wiederholter Versuche mit anderem Meerschweinchenserum zum zweiten Male niemals mehr erhalten habe. Zwischen dem Pferdeserum und dem Meerschweinchenserum steht das Hundeserum, das sich hier als wirksamer erwiesen hat als den Sporen gegenüber. Aehnlich dem Pferdeserum tötet 24 Stunden altes Hundeserum in den ersten 10 Minuten etwa die Hälfte der eingesäten Stäbchen, deren Zahl dann bis zum Ablauf der ersten Stunde entweder gleich verbleibt oder nur langsam abnimmt, nach 5 Stunden aber schon wieder, ähnlich wie im Meerschweinchenserum, aber im Gegensatz zum Pferdeserum, etwas zunimmt und dann weiter steigt. Frisches Rinderserum fand ich in allen Fällen auf Stäbchen etwas wirksam, die abtötende Wirkung setzte etwa 20 Minuten nach der Einsaat ein. Innerhalb 5 Stunden war beinahe die Hälfte der eingesäten Keime abgetötet; nach dieser Zeit fand eine Vermehrung statt. Aelteres Serum erwies sich fast wirkungslos. Aehnliches Verhalten zeigte das Hammelserum; im allgemeinen war es aber etwas schwächer; nur innerhalb der ersten Stunde wirksam war Ziegenserum. Fast gar nicht wirksam oder eigentlich nur entwickelungshemmend zeigte sich das Serum vom Schwein, vom Huhn und von der Taube. Eine Entwickelungshemmung ist aber nur so zu verstehen, daß die Zahl der eingesäten Keime annähernd auf der gleichen Höhe bleibt oder nur eine unwesentliche Abnahme bezw. Zunahme zeigt.

Zusammenstellung No. 7.

Einwirkung des Serums verschiedener anderer Tiere (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf kapsellose, sporenfreie Stäbchen bei 37 ° C.

Lfde No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach								Bemerkungen
				10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
				a) Rinderserum.								
1	III	2 Std.	2 400	2 400	2 000	1 500	1 500	1 200	6 000	∞	∞	
2	V	2 „	2 500	2 500	2 000	1 800	1 800	1 500	6 000	∞	∞	
3	I	24 „	2 000	1 800	1 800	1 500	1 400	1 200	5 000	∞	∞	
4	III	48 „	4 500	4 500	4 500	4 200	4 000	4 800	10 000	∞	∞	
5	I	48 „	10 000	10 000	10 000	10 000	10 000	15 000	20 000	∞	∞	
				b) Schweineserum.								
1	I	2 Std.	800	600	600	600	600	1 000	∞	∞	∞	
2	III	2 „	4 500	4 500	4 500	4 200	4 000	6 000	∞	∞	∞	
3	I	24 „	800	650	650	600	600	1 200	∞	∞	∞	
4	I	24 „	4 000	4 000	4 000	4 000	3 500	8 000	∞	∞	∞	
				c) Hammelserum.								
1	III	2 Std.	500	500	400	300	300	1 500	∞	∞	∞	
2	III	2 „	500	500	360	300	200	800	∞	∞	∞	
3	I	2 „	1 500	1 500	1 200	1 200	1 200	2 800	∞	∞	∞	
4	I	4 Tag.	600	600	600	400	450	1 000	∞	∞	∞	
				d) Ziegenserum.								
1	I	18 Std.	600	600	500	450	450	900	∞	∞	∞	
				e) Meerschweinchenserum.								
1	I	2 Std.	600	600	600	450	400	300	1000	∞	∞	
2	III	2 „	900	600	500	200	180	20	0 (!)	0	0	
3	IV	2 „	1 500	1 200	1 200	600	500	200	500	∞	∞	
				f) Taubenserum.								
1	III	3 Std.	30 000	30 000	28 000	25 000	25 000	∞	∞	∞	∞	
				g) Hühnerserum.								
1	I	2 Std.	100	90	80	80	83	800	∞	∞	∞	
2	I	2 „	600	600	500	500	550	2 500	∞	∞	∞	
3	IV	2 „	10 000	10 000	9 000	8 000	8 000	25 000	∞	∞	∞	
				h) Hundeserum.								
1	III	24 Std.	5 000	2 500	2 000	2 000	2 000	3 000	∞	∞	∞	
2	I	24 „	500	300	250	250	200	300	10 000	∞	∞	

Von einem gänzlichen Fehlen einer milzbrandabtötenden Kraft kann nämlich bei keinem der von mir untersuchten Sera die Rede sein, auch dann nicht, wenn beim Plattenverfahren eine Abnahme der Keime nicht festzustellen ist. Bei der mikroskopischen Untersuchung sieht man nämlich auch in solchem Serum, das gewöhnlich als unwirksam bezeichnet wird, in jedem Falle sehr deutlich eine Abtötung der Stäbchen, die dem Wesen nach genau in derselben Weise vor sich geht wie im Kaninchenserum, mit dem Unterschiede jedoch, daß nur weniger Stäbchen und nur so langsam der Vernichtung verfallen, daß die absterbenden Stäbchen durch neugebildete Stäbchen fast völlig ersetzt werden, so daß sich beim Plattenverfahren annähernd dieselben oder etwas geringere Zahlen ergeben als sofort nach der Einsaat. Von einer hemmenden Wirkung eines Serums kann man demnach dann sprechen, wenn die Vernichtung und die Neubildung der Keime annähernd auf derselben Stufe bleibt, von einer schwachen Wirkung, wenn die Anzahl der abgetöteten Keime etwas größer ist als die der neugebildeten, und von einer starken Wirkung, wenn die Abtötung der Keime massenhaft geschieht und eine Neubildung fast gar nicht mehr vor sich geht.

Um noch die Literaturangaben über die milzbrandfeindliche Wirkung des Serums der einzelnen Tiere anzugeben, sei hier kurz erwähnt, daß auch Buchner (20), Pane (72), Conradi (25), Wilde (100), Bail (3—7), Gruber und Futaki (46), sowie Preisz (84) beim Kaninchenserum eine stark abtötende Wirkung den Milzbrandstäbchen gegenüber festgestellt haben. Pferdeserum ist nach Bail und Preisz stark abtötend, Meerschweinchenserum nach Bail schwach wirksam; Hundeserum besitzt nach Bail keine erheblichen, nach Pane (72), Sanfelice (89) und Preisz gar keine Wirkungen, ebenso nach Preisz Rinderserum. Schwach wirkt es dagegen nach Bail, ebenso das Hammelserum. Schweineserum besitzt nach Bail keine Wirkung, schwach hemmend dagegen wirkt das Serum vom Huhn und von der Taube. Menschenserum ist nach Bail und Preisz nicht wirksam.

Zusammenstellung No. 8.

Einwirkung des verdünnten Kaninchenserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf kapsellose und sporenfreie Stäbchen bei 37° C.

Lfde No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Kaninchenserum verdünnt mit	im Verhältnis	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Gemisches auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach 10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	III	2 Std.	Kochsalz	1:10	500	20	10	6	5	3	500	∞	∞
2	III	2 „	„	1:100	500	40	20	15	15	30	600	∞	∞
3	IV	2 „	„	1:10	1500	600	400	250	200	15	800	∞	∞
4	IV	2 „	„	1:100	1500	800	600	500	500	100	1500	∞	∞
5	III	2 „	Hammelserum	1:10	500	40	30	20	18	2	200	1500	∞
6	III	2 „	„	1:100	500	400	400	360	360	500	10000	∞	∞
7	IV	2 „	Meerschweinchenserum	10:1	1500	50	30	30	25	6	0	0	0
8	IV	2 „	Meerschweinchenserum	1:10	1500	180	120	80	60	5	0	0	0
9	III	2 „	Schweineserum	1:1	4500	100	2	(!)0	0	0	0	0	0
10	III	2 „	„	1:10	4500	50	10	3	(!)0	0	0	0	0
11	III	2 „	Rinderserum	1:1	4500	2	(!)0	0	0	0	0	0	0
12	III	2 „	„	1:10	4500	60	10	3	2	6	100	5000	∞
13	I	2 „	„	1:1	2000	40	10	10	6	0	0	0	0
14	I	2 „	„	1:10	2000	100	15	6	2	0	0	0	0

Auch mit Verdünnungen und Mischungen der verschiedenen Sera habe ich Versuche angestellt (Zusammenstellung No. 8).

Kaninchenserum besitzt, mit Kochsalz verdünnt, 1:10 und sogar 1:100, noch stark milzbrandabtötende Wirkung. Auch verdünnt wirkt es, ähnlich wie reines Serum, sofort nach der Einsaat, in den ersten 10 Minuten am kräftigsten, doch hört die Wirkung in der Regel schon nach 5 Stunden auf, ohne daß eine völlige Abtötung der Keime zustande kommt, auch nicht bei kleinen Einsaaten, wie z. B. bei 500 Keimen auf 0,1 ccm. Ebenso ist die Wirkung in Verdünnungen mit Hammelserum im Verhältnis 1:10. In einer Verdünnung 1:100 habe ich eine so kräftige Wirkung nicht mehr gesehen, im Gegensatz zu der noch ziemlich starken Wirkung in derselben Verdünnung mit Kochsalz. Mit 10 Teilen Meerschweinchenserum verdünnt wirkt das Kaninchenserum sehr kräftig, wenn auch nicht mehr ganz so stark und so schnell als reines Serum. Immerhin waren innerhalb 24 Stunden in 0,1 ccm dieser Mischung 1500 Keime völlig abgetötet. Ganz merkwürdig stark und schnell wirkte Kaninchenserum mit 10 Teilen Schweineserum oder 10 Teilen Rinderserum gemischt (lfd. No. 10 und 14 der Zusammenstellung No. 8). Die Mischung dieser fast wirkungslosen Sera mit Kaninchenserum entfaltete demnach eine Wirkung, die fast noch kräftiger war als die des reinen Kaninchenserums. Nur in einem Falle (lfd. No. 12) ist es in dieser Mischung zu einer völligen Abtötung der Milzbrandstäbchen nicht gekommen.

Noch überraschender als die Versuche mit Mischungen und Verdünnungen des Kaninchenserums waren die Versuche mit verdünntem Hundeserum. Während in 0,1 ccm reinen Hundeserums von 5000 Stäbchen nach einer Stunde noch 2000 Keime lebensfähig waren, blieben in einer Verdünnung des Hundeserums mit 10 Teilen Kochsalz nach 1 Stunde von 5000 Keimen nur noch 1200 Keime am Leben. Noch kräftiger war die Wirkung in einer Verdünnung mit 100 Teilen Kochsalz: von 5000 eingesäten Keimen gingen nach 1 Stunde nur noch 1000 Keime auf der Platte auf, und nach 5 Stunden war die Anzahl der Keime noch weiter um 200 gesunken; dann erst trat eine Vermehrung der Keime ein. Mit Rinderserum vermischt war die Wirkung des Hundeserums nicht so kräftig wie mit Kochsalz verdünnt, aber immer noch kräftiger als das reine Hundeserum. Meine Versuche mit Mischungen und Verdünnungen der Sera der einzelnen Tiere sind noch zu wenig umfangreich, um zu berechtigten Schlüssen berechtigen zu können. Sie sind aber überraschend genug, um zur Fortsetzung der Versuche anzuregen. Besonders die stärkere Wirkung des mit Kochsalz verdünnten Hundeserums läßt die Vermutung aufsteigen, ob nicht vielleicht im Serum der unempfänglichen Tiere irgendein Stoff enthalten ist, der die milzbrandfeindliche Wirkung des Serums bei Versuchen im Glase hemmt, und dessen hemmende Wirkung sich vielleicht durch starke Verdünnungen ausschalten oder vermindern läßt. Ich werde die Versuche nach dieser Richtung hin weiter fortsetzen.

Zusammenstellung No. 9.

Einwirkung des verdünnten Hundeserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf kapsellose, sporenfreie Stäbchen bei 37° C,

Lfde No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Hundeserum verdünnt mit	im Verhältnis	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Gemisches auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach 10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	III	24 Std.	Kochsalz	1 : 10	5000	1800	1800	1300	1200	2000	∞	∞	∞
2	III	24 „	„	1 : 100	5000	1800	1200	1000	1000	800	2000	∞	∞
3	III	24 „	Rinderserum	10 : 1	5000	2500	2000	1800	1800	1800	∞	∞	∞
4	III	24 „	„	1 : 10	5000	1800	1800	1500	1200	1800	∞	∞	∞

c) Wirkung des Serums auf Kapselstäbchen.

Kapselstäbchen habe ich mir zu diesen Versuchen durch Einsaat von Sporen in aktives oder inaktiviertes Serum verschiedener Tiere hergestellt und meist 14- bis 15-stündige Kulturen verwendet, weil in Kulturen von diesem Alter in der Regel die meisten Stäbchen gut ausgebildete und noch wenig zerfallende Kapseln besitzen, und andererseits noch keine Sporen aufweisen, da, wie bereits erwähnt, die Neubildung von Sporen im Serum langsamer vor sich geht als auf Schrägagar oder in Bouillon. Schütteln und Verreiben der Serumkulturen habe ich vor der Einsaat möglichst vermieden, um die Kapseln nicht zu beschädigen; dagegen habe ich vielfach, wenn ich größere Einsaaten brauchte, die Kapselstäbchen aus dem Serum ausschleudern müssen. Nachdem ich aber festgestellt hatte, daß Kaninchenserum auf Kapselstäbchen, die aus Serum stammten, stark abtötend wirkte, machte ich auch Versuche mit Kapselstäbchen, die unmittelbar aus Milzbrandtieren stammten, um den Einwand zu beseitigen, daß vielleicht die im Serum gewachsenen Kapseln in ihrer

Zusammenstellung No. 10.

Einwirkung des Kaninchenserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf Kapselstäbchen bei 37° C.

Stamm-No.	Alter des Serums	Kapselstäbchen aus	Kapselstäbchen Alter Std.	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach 10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	Bemerkungen
I	1 Std.	Hammelserum	14	12 000	300	150	40	6	0	0	0	0	dasselbe Serum wie Zusammenstellung lfd. No. 23 dieser und lfd. No. 14 d. Zusammenstellg. No. 5
I	24 „	„	14	1 800	250	180	80	60	10	0	0	0	
I	24 „	„ inakt.	14	60 000	2000	600	1	0	0	0	0	0	
I	4 Tage	„	14	20 000	700	250	200	180	100	90	400	∞	
I	2 Std.	Schweineserum	14	500	10	2	0	0	0	0	0	0	
IV	2 „	„	14	50 000	6000	2000	600	500	80	0	0	0	
I	2 „	„ inakt.	14	600	100	5	2	1	0	0	0	0	
IV	2 „	„ „	14	60 000	8000	3200	1200	1000	600	600	0	0	
III	2 „	Rinderserum	14	6 000	200	50	3	3	0	0	0	0	
III	2 „	„	14	20 000	500	300	100	90	10	0	0	0	
III	2 „	„ inakt.	14	4 500	800	300	120	100	0	0	0	0	
I	2 „	„ „	14	30 000	400	80	25	20	0	0	0	0	
I	24 „	Pferdeserum	15	2 000	1500	1300	1200	1200	700	300	800	∞	
I	2 „	„	12	60 000	600	400	200	200	100	50	400	∞	
I	2 „	Kaninchenserum	12	60 000	600	500	300	300	250	150	500	∞	
IV	2 „	„ inakt.	15	300	(!)0	0	0	0	0	0	0	0	
III	2 „	„ „	15	1 200	50	20	3	1	0	0	0	0	
—	12 Tage	Blut eines an Milzbrand verendeten Rindes	24 Std. nach dem Tode	500	10	2	0	0	0	0	0	0	
IV	2 Std.	Milz einer an Milzbrand erkrankten getöteten Maus	24 Std. nach der Impfung	12 000	100	6	2	2	0	0	0	0	
I	2 „	Herzblut u. Milz einer an Milzbrand gestorbenen Maus	2 Std. nach dem Tode	60 000	300	20	0	0	0	0	0	0	
I	24 „	Impftasche einer mit Sporen geimpften noch lebenden Maus	15 Std. nach der Impfung	2 000	150	100	10	10	0	0	0	0	
IV	2 „	Milz eines an Milzbrand verendeten Meerschweinchens	3 Std. nach dem Tode	15 000	150	10	0	0	0	0	0	0	
IV	4 Tage	Herzblut einer an Milzbrand verendeten Maus	2 Std. nach dem Tode	300	1	0	0	0	0	0	0	0	dasselbe Serum wie bei lfd. No. 4 dieser Zusammenstellg.

stofflichen Zusammensetzung und in ihrem Wesen etwas anderes sein könnten, als die im lebenden Tiere gewachsenen Kapseln.

Kaninchenserum besitzt, wie aus der Zusammenstellung No. 10 zu ersehen ist, auch Kapselstäbchen gegenüber eine stark abtötende Wirkung, und zwar in ähnlicher Weise wie kapsellosen Stäbchen gegenüber. Auch von den Kapselstäbchen wird gleich in den ersten Minuten nach der Einsaat die Hauptmasse vernichtet, und dann verfallen die noch übriggebliebenen Stäbchen in kurzer Zeit demselben Schicksal. Im Hammelserum gezüchtete Kapselstäbchen widerstanden frischem Kaninchenserum weniger als kapsellose Stäbchen aus Schrägagarkulturen. Von 12000 Kapselstäbchen waren nach 1 Stunde in 0,1 ccm Serum nur noch 6 Stäbchen zurückgeblieben, und nach 5 Stunden waren auch diese abgetötet.

Ebenso waren bei einer Einsaat von 300 aus inaktiviertem Kaninchenserum stammenden Kapselstäbchen auf 0,1 ccm nach 10 Minuten sämtliche Keime abgetötet und von 1200 Kapselstäbchen waren nach 10 Min. nur noch 50 Keime, nach 1 Stunde nur noch 1 Keim und nach 5 Std. gar keine Keime mehr am Leben.

Ganz anders dagegen liegen die Verhältnisse bei denjenigen Kapselstäbchen, die im starken milzbrandfeindlichen Serum gewachsen sind, z. B. im aktiven Pferdeserum oder Kaninchenserum. Stäbchen, die im aktiven Pferde- oder Kaninchenserum leben geblieben oder darin gewachsen sind, besitzen eine ungleich viel größere Widerstandsfähigkeit gegen Kaninchenserum (Zusammenstellung No. 10, lfd. No. 13—15), als im unwirksamen Serum gewachsene Stäbchen. Auf diesen Punkt komme ich noch später zurück.

Wenn schon die geringe Widerstandsfähigkeit der in verschiedenen Seris gewachsenen Kapselstäbchen überraschend war, insofern als sie der allgemein verbreiteten Ansicht über die Schutzwirkung der Kapsel nicht entsprach, so erwiesen sich bei meinen weiteren Versuchen die im lebenden Tiere gebildeten Kapselstäbchen als noch viel weniger widerstandsfähig. Ich habe zu diesen Versuchen von Rindern, Meerschweinchen und Mäusen Blut und Milzstücke, die ich in Kochsalzlösung fein verrieben habe, verwendet und später, um zu vermeiden, daß alsbald nach dem Tode des Tieres eine Schädigung der in dem toten Tierkörper enthaltenen Milzbrandstäbchen eintrete, nicht erst den Tod der Tiere abgewartet, sondern sie schon getötet, wenn sie Krankheitserscheinungen und Milzbrandstäbchen im Blute zeigten, und dann unmittelbar nach der Tötung das Herzblut oder die Milz zu meinen Versuchen verwendet. Um auch noch weiter eine Schädigung der Stäbchen nach dem Tode der Tiere auszuschließen, habe ich aus der Impftasche der noch lebenden geimpften Tiere mit der Platinöse das dort befindliche, Kapselstäbchen enthaltende Exsudat entnommen und unmittelbar in Kaninchenserum übertragen. Die Ergebnisse aller dieser Versuche waren aber, wie eine einfache Durchsicht der lfd. No. 18—23 der Zusammenstellung No. 10 ergibt, immer dieselben: Die im lebenden Tiere gebildeten Kapselstäbchen gingen im Kaninchenserum noch schneller und massenhafter zugrunde, als aus Serum stammende Kapselstäbchen.

Die Veränderungen, die an den Kapselstäbchen im Kaninchenserum vor sich gehen, lassen sich in nach Klett oder mit Kristallviolett gefärbten Ausstrichen sehr gut verfolgen. Zwei derartige Versuche will ich hier anführen, bemerke aber, daß in jeder Serumkultur, in jedem aus der Impftasche stammenden Sekret und in jeder aus Tierleichen ent-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nommenen Probe zu jeder Zeit eine gewisse, wenn auch wechselnde Anzahl von Kapselstäbchen sich vorfindet, die nicht nur an ihrer Kapsel Anzeichen der Rückbildung zeigen, sondern auch an den Leibern Erscheinungen des Zerfalls in mehr oder weniger hohem Grade aufweisen, ebenso wie in Bouillon- oder Schrägagarkulturen. Nur aus der Menge der veränderten Stäbchen und aus der mehr oder weniger starken Zunahme der diese Veränderungen zeigenden Stäbchen kann daher auf Grund der mikroskopischen Untersuchung auf den Grad der milzbrandfeindlichen Wirkung des betreffenden Serums geschlossen werden.

1) Stamm I. Hammelserumkultur, 15 Stunden alt, 0,5 ccm auf 0,2 ccm 2 Stunden alten Kaninchenserums. Untersuchung gefärbter Ausstriche, Färbung mit Kristallviolett:

Vor der Einsaat: Lange Fäden und Ketten, sowie kurze Stäbchen mit 1—3-facher Kapsel. Im Zerfall begriffene und kapsellose Stäbchen in geringer Anzahl.

Nach 5 Minuten: Kapseln erscheinen etwas schwächer gefärbt. Die meisten Stäbchen wie von außen angefressen, gekörnt, meist lückenhaft gefärbt; in vielen Kapseln nur noch ein dünner, gekörnter Strich an Stelle des Stäbchens. Es treten schon zahlreiche Kapseln auf, in denen der Zellleib überhaupt nicht mehr zu sehen ist, sogenannte „leere Kapseln".

Nach 25 Minuten: Die meisten Kapselstäbchen sind nur noch schwach violett gefärbt. Angefressene Stäbchenleiber viel zahlreicher, in vielen Kapseln nur noch ganz dünne Striche oder einzelne Punkte, die die frühere Lage des Stäbchenleibes andeuten. Die überhaupt noch vorhandenen Stäbchen und Fäden sind meist nur ganz schwach violett gefärbt, und sehen wie Schatten der früheren Stäbchen aus.

Nach 4 Stunden: Unbeschädigte Stäbchen nur ganz vereinzelt, die meisten nur schwach und schattenhaft gefärbt, Stäbchenleiber nur schwach angedeutet oder überhaupt nicht mehr erkennbar.

Nach 24 Stunden: Stäbchen sind überhaupt nicht mehr nachweisbar, auch keine Ueberreste derselben.

2) Stamm III. Das ganze Herzblut einer an Milzbrand verendeten Maus auf 2,0 ccm 48-stündigen Kaninchenserums. Färbung nach Klett.

Vor der Einsaat: Die meisten Stäbchen besitzen eine 1—2-fache Kapsel schön rot gefärbt, Leiber gleichmäßig dunkelblau. Anzahl der zerfallenen Stäbchen verhältnismäßig gering, ebenso die der kapsellosen.

Nach 10 Minuten: Einzelne Stäbchenleiber noch gleichmäßig blau gefärbt, Kapsel hellrot, Rand etwas dunkler. An den meisten Stäbchen und Ketten ist der Zerfall deutlich zu sehen. Zahlreiche leere Kapseln. In vielen Kapseln die Lage der früheren Leiber nur noch durch unterbrochene blaue Striche oder Punkte angedeutet.

Nach 20 Minuten: Die meisten Stäbchen und Ketten nur schwach rosarot gefärbt, in einzelnen nur schwach blaue Striche und Punkte.

Nach 1 Stunde: Man sieht fast nur noch ganz schwach rosa gefärbte Gebilde mit vereinzelten blauen Strichen und Punkten, die wie Schatten der früheren Kapselstäbchen aussehen. Vereinzelte unbeschädigte kurze Stäbchen, oder auch einzelne unbeschädigte Glieder in längeren Ketten.

Nach 18 Stunden: Es treten bis 20-gliedrige schön blau gefärbte kapsellose Fäden auf, daneben auch kürzere blau gefärbte Fäden mit gleichmäßig rot gefärbter Kapsel; daneben zerfallende Kapselstäbchen und Ketten auf allen Zerfallsstufen.

Der Zerfall der Kapselstäbchen im Kaninchenserum vollzieht sich demnach ganz anders als der Zerfall der kapsellosen Stäbchen. Während

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nämlich letztere zuerst aufquellen, also an Masse zunehmen, Lücken zeigen, die immer größer und größer werden, bemerkt man an Kapselstäbchen eine derartige Aufquellung meist nicht. Die Stäbchen nehmen nicht zuerst an Masse zu, sondern sie werden innerhalb der Kapsel einfach von außen her aufgelöst, wie ein längliches Stückchen Zucker im Wasser. Der scharf begrenzte Rand wird unregelmäßig zackig, der ganze Leib wird eingeschmolzen, so daß binnen kurzer Zeit von dem Zellleibe, innerhalb der inzwischen auch schon nicht mehr so rot färbbaren Kapsel, gar nichts mehr zu sehen ist. Auch die Veränderung der Kapsel eines absterbenden Stäbchens geht ganz anders vor sich, als der Zerfall der Kapseln an lebenden Zellleibern. Der Zerfall besteht in der Hauptsache darin, daß die Kapsel ihre Aufnahmefähigkeit dem Farbstoffe gegenüber immer mehr und mehr verliert, ohne Ablösung vom Zellleibe, ohne körnigen Zerfall am Rande und ohne Schichtung der Kapsel. Diese schrumpft immer mehr und mehr zusammen, sieht wie ein Schatten der früheren Kapsel aus, und schließlich nimmt sie den Farbstoff gar nicht mehr an, sie ist färberisch nicht mehr nachzuweisen. Die ganze Art der Auflösung der bekapselten Stäbchen im Kaninchenserum hat im Gegensatz zu dem Zerfall der kapsellosen Stäbchen eine gewisse Aehnlichkeit mit dem Zerfall von Stäbchen, wie man ihn neben anderen Arten des Zerfalls auch in Milzbrandleichen beobachten kann. Die leeren Kapseln, wie sie im Kaninchenserum alsbald nach der Einsaat von Kapselstäbchen auftreten, hat auch schon R. Koch (58) an aus Milzbrandratten stammenden Stäbchen gesehen. Sie haben auf ihn den Eindruck gemacht, als wären es ihres Inhalts beraubte Hüllen.

Auch mit anderem Serum verdünnt wirkt das Kaninchenserum noch abtötend auf Kapselstäbchen (Zusammenstellung No. 11), jedoch nicht ganz so stark wie unverdünnt. Mit Ausnahme eines Falles (lfd. No. 2) ist aber doch noch in allen übrigen Fällen eine völlige Abtötung der eingeführten Kapselstäbchen zustande gekommen, ähnlich wie bei kapsellosen Stäbchen. Die Versuche mit Mischungen und Verdünnungen der verschiedenen Sera müssen aber, wie bereits erwähnt, weiter fortgesetzt werden.

Zusammenstellung No. 11.

Einwirkung des verdünnten Kaninchenserums (2 ccm in Glasröhrchen) auf Kapselstäbchen (aus Rinderserum) bei 37° C.

Laufende No.	Stamm-Nummer	Alter des Serums	Kaninchenserum verdünnt mit	im Verhältnis	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach 10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	III	2 Std.	Schweineserum	1 : 1	6 000	600	200	100	100	0	0	0	0
2	III	2 „	„	1 : 10	6 000	1200	400	150	145	3	50	1000	∞
3	III	2 „	Rinderserum	1 : 1	6 000	600	180	50	30	0	0	0	0
4	III	2 „	„	1 : 10	6 000	1000	400	100	80	0	0	0	0
5	I	2 „	„	1 : 1	30 000	300	120	60	50	0	0	0	0
6	I	2 „	„	1 : 10	30 000	400	200	80	60	4	0	0	0

Pferdeserum besitzt auf, im fast wirkungslosen Hammelserum gebildete Kapselstäbchen, fast dieselbe Wirkung, wie auf kapsellose Stäbchen (vgl. Zusammenstellung No. 12, lfd. No. 1 und Zusammenstellung No. 6, lfd. No. 3), ebenso auf Kapselstäbchen aus inaktiviertem Pferde- und Kaninchenserum (lfd. No. 4 und 6). Solchen Stäbchen

Zusammenstellung No. 12.

Einwirkung des Pferdeserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf Kapselstäbchen bei 37° C.

Laufende No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Kapselstäbchen		Anzahl d. auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm der auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach							
			aus	Alter Std.		10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	III	24 Std.	Hammelserum	14	1 500	1 200	700	200	180	20	15	1600	∞
2	IV	24 „	Pferdeserum	15	10 000	6 000	5 000	3 000	3000	300	1000	∞	∞
3	I	24 „	„	12	60 000	50 000	50 000	40 000	40000	2000	∞	∞	∞
4	IV	24 „	„ inakt.	15	4 000	3 000	2 000	1 000	1000	100	600	∞	∞
5	I	24 „	Kaninchenser.	12	60 000	50 000	50 000	45 000	40000	1000	2000	∞	∞
6	IV	24 „	„ inakt.	15	10 000	6 000	5 000	3 000	3000	250	400	8000	∞
7	IV	24 „	Herzblut einer an Milzbrand verendeten Maus	2 Std. nach d. Tode	300	60	30	20	20	2	0	0	0
8	I	24 „	Impftasche einer mit Sporen geimpften noch lebenden Maus	15 Std. nach der Impfg	2 000	1 800	1 700	1 500	1 500	700	300	1000	∞

gegenüber, die im aktiven Pferde- oder Kaninchenserum nicht abgetötet, sondern gewachsen sind, ist dagegen die milzbrandfeindliche Kraft des Pferdeserums bedeutend schwächer, ähnlich wie ich das schon vom Kaninchenserum hervorgehoben habe. Diese Tatsache bestätigt auch hier wieder die Annahme, daß es sich immer nur um einige wenige, besonders kräftige unter den eingesäten Milzbrandkeimen handelt, welche der vernichtenden Wirkung des stark milzbrandabtötenden Serums widerstehen. Auf die aus der Impftasche einer mit Milzbrandsporen geimpften Maus stammenden Kapselstäbchen war die Wirkung des Pferdeserums ähnlich, wie auf kapsellose Stäbchen (Zusammenstellung No. 12, lfd. No. 8 und Zusammenstellung No. 6, lfd. No. 5). Auffallend stark milzbrandfeindlich zeigte sich dagegen ein 24-stündiges Pferdeserum gegenüber den aus dem Herzblute und der Milz einer Milzbrandmaus stammenden Kapselstäbchen. Von 300 Kapselstäbchen waren in 0,1 ccm Pferdeserum nach 5 Stunden nur noch 2 und nach 24 Stunden gar keine Keime mehr am Leben. Hier trat also bei Kapselstäbchen eine völlige Abtötung ein, wie ich sie im Pferdeserum sonst niemals beobachtet habe (Zusammenstellung No. 12, lfd. No. 7 und Zusammenstellung No. 6, lfd. No. 1 und 2). Im Meerschweinchenserum habe ich ähnlich wie bei kapsellosen Stäbchen, nur einmal eine völlige Vernichtung der eingesäten bekapselten Stäbchen beobachtet, die auch hier erst nach 24 Stunden eingetreten war. In beiden Fällen handelte es sich um dasselbe Serum und um denselben Milzbrandstamm. Auch bei den weiteren Versuchen habe ich wesentliche Unterschiede in der Wirkung des Meerschweinchenserums auf kapsellose und bekapselte Stäbchen nicht gefunden, ebensowenig beim Serum der anderen von mir untersuchten Tiere (Zusammenstellung No. 13). Ich möchte aber auch hier noch einmal betonen, daß die schwache oder hemmende Wirkung eines Serums nur ebenso zu verstehen ist, wie ich es bei der Besprechung der kapsellosen Stäbchen angegeben habe. Denn auch an den bekapselten Stäbchen kann man in jedem Serum und zu jeder Zeit einen mehr oder weniger starken Zerfall beobachten, der dem Wesen nach genau so vor sich geht, wie im Kaninchenserum, aber nicht so massenhaft und schnell. Der Zerfall wird hier aber je nach der schwach abtötenden oder hemmenden

Zusammenstellung No. 13.

Einwirkung des Serums verschiedener anderen Tiere (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf Kapselstäbchen bei 37° C.

Laufende No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Kapselstäbchen aus	Kapselstäbchen Alter Std.	Anzahl d. auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach 10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
a) Rinderserum													
1	III	48 Std.	Rinderserum inakt.	15	6 000	4 500	4 500	4 000	4 000	8 000	∞	∞	∞
2	I	24 „	„ „	15	30 000	28 000	27 000	25 000	25 000	60 000	∞	∞	∞
3	—	3 Tage	Blut einer an Milzbrand verendeten Kuh	24 Std. nach d. Tode	500	450	400	350	350	1 000	∞	∞	∞
b) Schweineserum													
1	III	2 Std.	Rinderserum inakt.	15	6 000	6 000	5 000	5 000	5 000	10 000	∞	∞	∞
2	—	3 Tage	Blut einer an Milzbrand verendeten Kuh	24 Std. nach d. Tode	500	450	400	400	350	1 200	∞	∞	∞
c) Hammelserum													
1	I	4 Tage	Hammelserum	12	600	600	500	400	400	1 000	∞	∞	∞
2	—	24 Std.	Blut einer an Milzbrand verendeten Kuh	24 Std. nach d. Tode	500	500	500	400	350	1 000	∞	∞	∞
d) Ziegenserum													
1	I	18 Std.	Hammelserum	12	600	600	600	500	400	900	∞	∞	∞
2	—	24 „	Blut einer an Milzbrand verendeten Kuh	24 Std. nach d. Tode	500	500	400	450	350	800	∞	∞	∞
e) Meerschweinchenserum													
1	III	2 Std.	Kaninchenser. inakt.	15	1 200	600	500	300	200	10	0	0	0
2	III	2 „	Rinderserum inakt.	15	4 500	2 000	1 500	1 000	800	500	6000	∞	∞
3	I	3 „	Hammelser. inakt.	14	60 000	50 000	50 000	40 000	40 000	30 000	∞	∞	∞
4	I	3 „	Milz und Blut einer Milzbrandmaus	2 Std. nach d. Tode	60 000	50 000	50 000	40 000	40 000	30 000	∞	∞	∞
5	—	24 „	Blut einer an Milzbrand verendeten Kuh	24 Std. nach d. Tode	500	400	350	300	300	100	6000	∞	∞
f) Menschenserum													
1	I	3 Tage	Impftasche einer noch lebenden Maus	24 Std. nach d. Impf.	20 000	18 000	18 000	15 000	15 000	20 000	∞	∞	∞
g) Taubenserum													
1	III	3 Std.	Rinderserum	14	20 000	19 000	19 000	18 000	15 000	25 000	∞	∞	∞
h) Hühnerserum													
1	I	2 Std.	Hammelserum	12	600	600	500	400	400	1 500	∞	∞	∞
2	IV	2 „	Kaninchenser. inakt.	18	10 000	10 000	10 000	8 000	8 000	20 000	∞	∞	∞
3	IV	2 „	Pferdeserum inakt.	14	4 000	4 000	4 000	3 500	3 000	8 000	∞	∞	∞
4	IV	2 „	„	14	10 000	10 000	10 000	9 000	9 000	20 000	∞	∞	∞
5	III	2 „ „	Herzblut einer milzbrandkranken getöteten Maus	24 Std. nach d. Impf.	300	300	280	240	240	500	∞	∞	∞
i) Hundeserum													
1	I	3 Tage	Impftasche einer noch lebenden Milzbrandmaus	24 Std. nach d. Impf.	2 000	1 500	1 300	1 000	1 000	1 500	∞	∞	∞

Wirkung des betreffenden Serums durch die Bildung neuer Stäbchen mehr oder weniger ersetzt.

d) Die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Kaninchenserums.

Aus den bisher angeführten Versuchen ergibt sich die von anderer Seite noch nicht hervorgehobene Tatsache, daß die Abtötung der Milzbrandkeime im Kaninchenserum in der Hauptsache schon innerhalb der ersten 10 Minuten vor sich geht, und daß die dann noch am Leben gebliebenen Keime erst später, aber immer noch in verhältnismäßig kurzer Zeit vernichtet werden, wenn es im gegebenen Falle überhaupt zur völligen Abtötung der Keime noch kommt, was aber bei frischem Serum in der Regel bei Einsaaten bis zu etwa 50000 Keimen auf 0,1 ccm in der Regel der Fall ist. Um festzustellen, in welcher Weise die Abtötung der Keime innerhalb der ersten 10 Minuten vor sich geht, habe ich auch einige Versuche in der Weise angestellt (Zusammenstellung No. 14), daß ich in der Zeit von 1—10 Minuten nach der Einsaat, nach jeder Minute Platten anlegte. Dabei stellte es sich heraus, daß bei den kapsellosen und bei den bekapselten Stäbchen die vernichtende Wirkung des Kaninchenserums fast blitzartig schnell eintritt. Schon nach 1 Minute waren bei großen Einsaaten fast $^3/_4$ der eingesäten Stäbchen nicht mehr imstande, sich weiterzuentwickeln. Von den nach 1 Minute noch lebenden Stäbchen widerstand noch eine beträchtliche Anzahl der vernichtenden Wirkung bis zum Ablauf der 4. Minute. Nach 5 Minuten aber konnte man wiederum eine plötzliche Abnahme der lebensfähigen Keime erkennen, die dann bis zum Ablauf der 10. Minute nur langsam weiter abnahmen. Von da ab ging die Abtötung in der bereits angeführten Weise langsam weiter vor sich. Obwohl es nur 3 Versuche sind, die ich nach dieser Richtung hin angestellt habe, so haben sie doch alle das gleiche Ergebnis gehabt. Bei Sporen tritt die zerstörende Wirkung des Kaninchenserums natürlich nicht sofort nach der Einsaat ein, denn wie ich gezeigt habe, müssen die Sporen erst gewisse Veränderungen der beginnenden Keimung eingehen, ehe sie für die vernichtende Wirkung des Kaninchenserums zugänglich gemacht werden. Doch vollziehen sich auch diese Veränderungen sehr schnell, denn schon innerhalb 10 Minuten ist in der Regel schon fast die Hälfte der eingesäten Sporen vernichtet.

Zusammenstellung No. 14.

Einwirkung des Kaninchenserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf Milzbrandkeime bei 37° C innerhalb der ersten 10 Minuten.

Laufende No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Anzahl d. auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach									
				1 Min.	2 Min.	3 Min.	4 Min.	5 Min.	6 Min.	7 Min.	8 Min.	9 Min.	10 Min.
				a) Kapsellose, sporenfreie Stäbchen									
1	I	3 Std.	200	20	10	10	6	2	2	1	1	1	1
2	I	1 „	4000	1000	700	500	400	60	50	50	30	30	20
				b) Kapselstäbchen in Hammelserum gezüchtet									
3	I	1 Std.	5000	1200	500	400	400	100	50	30	30	25	18
				c) Sporen.									
4	I	1 Std.	15000	15000	15000	15000	15000	15000	12000	11000	10000	9000	9000

Durch meine Versuche konnte ich ferner auch die schon von

Buchner (20) u. a. festgestellte Tatsache bestätigen, daß frisches Kaninchenserum wirksamer ist als altes, daß es aber auch nach mehreren Tagen eine noch viel stärkere Wirkung auf Milzbrandkeime besitzt als frisches Serum anderer Tiere, denn 0,1 ccm eines 4-tägigen Serums war noch imstande, innerhalb 24 Stunden 12000 Keime völlig abzutöten, und in 0,1 ccm eines anderen 11 Tage alten Serums waren nach 24 Stunden nur noch 10 Keime am Leben.

Als eins der wichtigsten Ergebnisse meiner Versuche mit Serum möchte ich aber die Tatsache hervorheben, daß bekapselte Stäbchen dem Kaninchenserum gegenüber keine größere, sondern eigentlich sogar noch eine geringere Widerstandsfähigkeit besitzen als Stäbchen ohne Kapseln. Wenn auch Nuttall (69) bereits die vernichtende Wirkung des Kaninchenblutes auf Kapselstäbchen durch seine ersten Versuche nachgewiesen hat — denn er machte sie, ohne es zu wissen, mit Kapselstäbchen — wenn auch Ascoli (1) gesehen hat, daß abgeschwächte Milzbrandstäbchen trotz der Kapsel durch Kaninchenserum vernichtet werden, und wenn schließlich auch Gruber und Futaki (47), die früher bei bekapselten Milzbrandstäbchen eine merklich größere Widerstandsfähigkeit gegen aktives Serum gesehen hatten als bei kapsellosen Stäbchen, sich für die Dauer nicht verhehlen konnten, daß „die Wirkung des in dünner Schicht ausgebreiteten Serums auf bekapselte Milzbrandstäbchen doch immer noch sehr stark ist“, so wird doch gerade die Kapsel des Milzbrandstäbchens von zahlreichen Forschern, wie ich schon wiederholt erwähnt habe, als das wichtigste Schutzmittel gegen die schädlichen Einflüsse des Tierkörpers und seiner Säfte angesehen, durch die das Milzbrandstäbchen sich vor seinem Untergange bewahrt. Preisz (84), der sich sehr eingehend mit der Schutzwirkung der Kapsel beschäftigt hat, hat ebenfalls über die Wirkung des Kaninchenserums auf gekapselte und ungekapselte Stäbchen Versuche angestellt, deren Ergebnisse jedoch mit den meinigen im Widerspruch stehen. Er hat in zwei kleine Uhrgläser je 0,2 ccm Kaninchenserum gebracht; in einem derselben wurde ein Milzbrandfaden zerzupft, der 24 Stunden unter der Haut einer Maus gelegen hatte; in das andere wurde sporenlose Agarkultur hineingebracht und beide Gefäße bei 37° C gehalten. Nach $3^1/_2$ Stunden und ebenso nach 21 Stunden waren sämtliche kapsellosen Stäbchen abgetötet, die Kapselstäbchen dagegen nicht. Bei einem zweiten Versuche, der in ähnlicher Weise angestellt wurde, nur daß der Gleichheit halber auch die unbekapselten Keime in einen Faden getränkt in das Serum gelegt wurden, war das Ergebnis ganz ähnlich wie bei dem ersten Versuche. Ferner konnte Preisz feststellen, daß das kapsellose Stäbchen in 0,2-proz. Karbolsäure schon nach 10 Sekunden abgestorben war, während die bekapselten Keime noch nach 15 Minuten lebten. In 1-proz. Essigsäure war der kapsellose Bacillus in 30 Sekunden abgestorben, der bekapselte lebte dagegen noch nach 4 Minuten. Erst nach der 8. Minute gaben auch die bekapselten Keime keine Kultur mehr. Schließlich hat Preisz den Kapselstoff von den Milzbrandstäbchen getrennt, und das Präparat Anthrakomucin genannt. Er konnte feststellen, daß ein Zusatz des Anthrakomucins die Fähigkeit besitzt, dem Blutserum seine milzbrandabtötenden Eigenschaften zu nehmen.

Hierzu möchte ich zunächst anführen, daß ich die Widerstandsfähigkeit der Kapselstäbchen gegen chemische Mittel nur mit Sublimat geprüft habe, und zwar nach der Vorschrift von Geppert (44) unter Zusatz von Schwefelammonium, aber leider erst nach einer 10 Minuten

Zusammenstellung No. 15.
Einwirkung des Kaninchenserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf
a = kapsellose, sporenfreie Stäbchen, b = Kapselstäbchen bei 37° C.

Laufende No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Kapsellose Stäbchen = a, Kapselstäbchen = b aus	a b	Anzahl d. auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach								Bemerkungen
						10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
1	III	2 Std.	Schrägagar	a	4 500	200	50	2	2	0	0	0	0	
			Rinderserum	b	6 000	200	50	3	3	0	0	0	0	
2	III	2 Std.	Schrägagar	a	900	20	0	0	0	0	0	0	0	
			Kaninchenser. inakt.	b	1 200	50	20	3	1	0	0	0	0	
			Rinderserum inakt.	b	4 500	800	300	120	100	0	0	0	0	
3	IV	2 Std.	Schrägagar	a	300	20	1	0	0	0	0	0	0	
			Kaninchenser. inakt.	b	300	(!) 0	0	0	0	0	0	0	0	
4	I	2 Std.	Schrägagar	a	2 000	120	8	0	0	0	0	0	0	
			Rinderserum inakt.	b	30 000	400	80	25	20	0	0	0	0	
5	I	2 Std.	Schrägagar	a	300	100	20	3	1	0	0	0	0	
			Schweineserum	b	500	10	2	0	0	0	0	0	0	
			„ inakt.	b	600	100	5	2	1	0	0	0	0	
			Milz eines an Milzbrand verendeten Meerschweinchens	b	15 000	150	10	(!) 0	0	0	0	0	0	
6	IV	4 Tage	Schrägagar	a	300	100	80	3	2	0	0	0	0	
			Herzblut einer an Milzbrand verendeten Maus	b	300	1	(!) 0	0	0	0	0	0	0	
7	IV	2 Std.	Schrägagar	a	50 000	8000	2000	1200	1000	5	0	0	0	
			Schweineserum	b	50 000	6000	2000	600	500	80	0	0	0	
			„ inakt.	b	60 000	8000	3200	1200	1000	600	600	0	0	
			Milz einer an Milzbrand erkrankten getöteten Maus	b	12 000	100	6	2	2	0	0	0	0	
8	III	2 Std.	Schrägagar	a	30 000	2000	300	200	180	50	5	1	100	
			Rinderserum	b	20 000	500	300	100	90	10	0	0	0	
9	I	24 Std.	Schrägagar	a	600	20	10	6	0	0	0	0	0	
			Hammelser. inakt.	b	60 000	2000	600	1	0	0	0	0	0	
			Herzblut und Milz einer an Milzbrand verendeten Maus	b	60 000	300	20	0	0	0	0	0	0	
10	I	24 Std.	Bouillon	a	6 000	600	400	250	240	16	0	0	0	
			Pferdeserum	b	1 800	1500	1300	1200	1200	700	300	1800	∞	
			Hammelserum	b	2 000	250	180	80	60	10	0	0	0	
			Impftasche einer mit Milzbrand geimpften Maus	b	2 000	150	100	10	10	0	0	0	0	
11	I	4 Tage	Bouillon	a	20 000	600	250	150	145	50	50	400	∞	1 Std. nach d. Tode des Kaninchens war das Ser. hochwirks., Vgl. Zusammenstellung No. 5, lfde No. 14.
			Hammelserum	b	20 000	700	250	200	180	100	90	400	∞	
			Hammelser., ausgeschleudert, in Kochsalz ausgewaschen und dann eingesät	b	20 000	600	250	150	150	40	40	500	∞	
12	I	2 Std.	Schrägagar	a	60 000	500	200	60	50	20	0	0	0	
			Kaninchenserum 24 St., dann Pferdeserum 15 Std., dann Schrägagar 14 Std.	a	60 000	800	500	300	250	50	40	300	∞	
			Pferdeserum	b	60 000	600	400	200	200	100	50	400	∞	
			Kaninchenserum	b	60 000	600	500	300	300	250	150	500	∞	

langen Einwirkung des Sublimats. Bei 0,1-proz. und 0,05-proz. Lösungen waren bei 37° nach 10 Minuten sowohl die kapsellosen wie die bekapselten Stäbchen sämtlich abgetötet. In einer 0,01-proz. Lösung dagegen waren nach 10 Minuten von 6000 auf 0,1 ccm Sublimatlösung eingesäten kapsellosen Stäbchen noch 3, und von ebenso vielen bekapselten Stäbchen noch 4 Keime am Leben. Demnach konnte ich kaum einen Unterschied in der Widerstandsfähigkeit der gekapselten und ungekapselten Stäbchen gegen Sublimat feststellen; doch müßten diese Versuche auch mit anderen Mitteln noch wiederholt werden. Zu den weiteren vergleichenden Versuchen von Preisz mit kapsellosen und ungekapselten Stäbchen im Kaninchenserum möchte ich zunächst bemerken, daß Preisz, wie er selbst zugibt, bei diesen Versuchen die Anzahl der in das Serum gebrachten Keime nicht genauer bestimmt hatte. Es ist somit nicht ausgeschlossen, daß die bekapselten Keime vielleicht infolge ihrer die milzbrandabtötende Kraft des Serums bereits überwältigenden Menge nicht abstarben. Außerdem stehen die Ergebnisse der beiden Versuche von Preisz mit den Angaben von Gruber und Futaki (47) im Widerspruch, die eine Wirkung des Kaninchenserums auch gegen bekapselte Milzbrandstäbchen beobachtet haben, und ebenso im Widerspruch mit meinen 18 Parallelversuchen, von denen jeder mit demselbem Serum, mit demselben Milzbrandstamme und auch sonst nach jeder anderen Richtung hin unter denselben Bedingungen angestellt worden ist (Zusammenstellung No. 15). Den Versuchen von Preisz ist ferner bezüglich der Benutzung von Seidenfäden entgegenzuhalten die Beobachtung von v. Behring (15), nach welcher Seidenfäden bei längerer Berührung die milzbrandfeindlichen Wirkungen abschwächen oder auch vernichten.

Auch die Versuche von Preisz mit Anthrakomucin, durch welche der Schutz der Milzbrandkapsel nachgewiesen werden soll, sind nicht einwandsfrei, denn es ist schon wiederholt darauf hingewiesen worden, daß manche fremdartigen Zusätze zum milzbrandabtötenden Serum diese Eigenschaften des Serums vernichten können. So konnte Dungern (29) durch Schütteln des Serums mit Bakterienemulsionen das Komplement entfernen. Ehrlich und Sachs (31) haben diese Versuche bestätigt, und Wilde (100) hat nicht nur mit erhitzten Bakterienemulsionen, sondern auch mit unlöslichen Eiweißkörpern die milzbrandabtötende Wirkung des Serums zerstört. Ehrlich konnte auch durch Zusatz von Kohle aus dem Pferde- und Kaninchenserum die Milzbrandalexine entfernen. Nach v. Lingelsheim (61) besitzen eine solche zerstörende Eigenschaft aber auch alle schleimigen Stoffe im hohen Maße. Er stellte fest, daß ein 1 bis 3,3-proz. Carrageenmoos-Dekokt in Mengen von 0,25, 0,5 und 1,0 ccm zu 1,0 ccm Pferde- oder Kaninchenserum zugesetzt, dem Serum sowohl Amboceptor als auch Komplement entzogen hatte, und daß diese Wirkung durch Herabsetzung der Alkaleszenz begünstigt wurde. Demnach dürften die Wirkungen, die Preisz mit dem Anthrakomucin erzielt hat, nicht als rein spezifische Eigenschaften des Milzbrandkapselstoffs aufzufassen sein, die gerade nur die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Serums aufheben, sondern diese Wirkung des Anthrakomucins ist vielmehr eine mehr allgemeine Wirkung, die sich auch mit anderen Stoffen und besonders mit schleimigen Mitteln erreichen läßt. Der Nachweis, daß das Anthrakomucin spezifisch wirkt, daß seine Wirkung lediglich nur gegen die milzbrandfeindliche Eigenschaft des Serums gerichtet ist, ist Preisz nicht gelungen. Der Umstand, daß er das Anthrakomucin erst im letzten

Stadium der Krankheit, zuweilen erst in den letzten Stunden im Blute nachgewiesen hat, wo bekanntlich die milzbrandfeindliche Wirkung des Serums aufhört, beweist noch nicht, daß es gerade der im Blute kreisende Kapselstoff ist, der die milzbrandfeindliche Wirkung aufhebt, sondern man kann mit demselben Recht gerade umgekehrt auch annehmen, daß der Kapselstoff zu dieser Zeit deshalb im Blute erscheint, weil nach der Aufhebung der milzbrandfeindlichen Kräfte im Serum eine rasche Vermehrung der Milzbrandstäbchen eintritt, die zum größten Teil eine Kapsel besitzen, und da die Kapseln zerfallen, so gelangt der Kapselstoff auf diese Weise ins Blut. Das Erscheinen des Kapselstoffes im Blute wäre demnach nicht als Ursache, sondern als Folge der Vermehrung und des Zerfalles der Milzbrandstäbchen im Körper aufzufassen. Wenn die Kapsel oder der Kapselstoff die Milzbrandstäbchen durch Aufhebung der milzbrandfeindlichen Kräfte der Körpersäfte tatsächlich schützen sollte, dann müßte man, wie Preisz selbst folgert: Erstens, bei empfänglichen Tieren die Inkubation und den Verlauf der Krankheit abkürzen können; zweitens, unempfängliche Tiere empfänglich machen können; und drittens, empfängliche Tiere für avirulente Stämme empfänglich machen können. Alle nach dieser Richtung hin gemachten Versuche sind aber Preisz bisher nicht gelungen. Die bisherigen Angaben, insbesondere auch die Versuche von Preisz über die größere Widerstandsfähigkeit der bekapselten Milzbrandstäbchen gegen die milzbrandfeindlichen Stoffe des Tierkörpers sind demnach nicht so einwandsfrei, daß sie imstande wären, meine Versuche zu entkräften, nach denen den bekapselten Stäbchen eine größere Widerstandsfähigkeit gegen die milzbrandfeindlicheu Einflüsse des Serums nicht zukommt als den ungekapselten Milzbrandstäbchen.

Die Tatsache, daß auch im stark milzbrandabtötenden Kaninchenserum einige Milzbrandstäbchen am Leben bleiben und sich dann weiter vermehren, läßt sich nach meinen Versuchen sehr leicht erklären, auch ohne daß man dafür den Schutz der Kapsel in Anspruch nimmt. Meine Beobachtung, daß auch bei ganz großen Einsaaten im Kaninchenserum nach den ersten 10 Minuten in der Regel nur einige wenige Keime am Leben bleiben, die längere Zeit, wenn es zu einer völligen Abtötung nicht kommt, der vernichtenden Wirkung des Kaninchenserums entgehen und sich dann weiter vermehren, kann nicht etwa auf die Erschöpfung des Kaninchenserums zurückgeführt werden, denn dann müßten kleinere Einsaaten innerhalb 10 Minuten vollständig vernichtet sein. Das Lebenbleiben einiger weniger Milzbrandkeime nach der ersten Massenvernichtung bei kleinen sowohl wie bei großen Einsaaten muß vielmehr auf gewisse Eigenschaften der betreffenden Keime zurückgeführt werden, die in einer größeren Widerstandsfähigkeit gegen die milzbrandfeindlichen Kräfte des Serums bestehen, und zwar nicht nur desselben Tieres oder derselben Tierart, sondern vielleicht sogar auch gegen stark milzbrandabtötendes Serum einer anderen Tierart. Es muß auch angenommen werden, daß diese größere Widerstandsfähigkeit auch auf die Mehrzahl der nächsten und auch der späteren Nachkommen übertragen werden kann. Wenn das der Fall ist, so müßte man Serumkulturen züchten können, die sich durch größere Widerstandsfähigkeit auszeichnen. Um dieser Frage nachzugehen, habe ich 12—15 Stunden alte Pferde- und Kaninchenserumkulturen, in denen eine gewisse Anzahl von Keimen der Vernichtung entgangen war, ausgeschleudert und die Keime dem Serum anderer Kaninchen zugesetzt. Wie aus der Zusammenstellung No. 15 lfd. No. 12 zu ersehen ist, ist es dem neuen Kaninchenserum nicht gelungen, auf die aus dem ersten Kaninchenserum siegreich hervorgegangenen Keime seine schädlichen Wirkungen bis zur völligen Vernichtung auszuüben, während dieselbe Serummenge eine gleiche Menge anderer Keime, die auf gewöhnlichem Schrägagar gewachsen waren, innerhalb 24 Stunden völlig abzutöten imstande gewesen ist. Auch solche Keime, die sich zuerst im Kaninchenserum, dann im Pferdeserum durchgekämpft haben und dann noch weitere 14 Stunden auf Schrägagar gewachsen waren, haben ebenfalls noch eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Kaninchenserum gezeigt, wenn auch nicht in dem Maße, wie die unmittelbar aus einem Kaninchenserum ins andere gebrachten Keime. Aehnliche, wenn auch wegen der weniger stark milzbrandabtötenden Kraft des Pferdeserums nicht so klar hervortretende Ergebnisse habe ich auch erhalten beim Einbringen der in oben genannter Weise vorbehandelten Milzbrandkeime in Pferdeserum (Zusammenstellung No. 16). Daß es aber nicht die Kapsel gewesen ist, die den überlebenden Keimen die erhöhte Widerstandsfähigkeit verliehen hat, geht daraus hervor, daß solche Stäbchen, die im Serum anderer Tiere oder im inaktivierten Pferde- oder Kaninchenserum gewachsen waren, denen so starke milzbrandfeindliche Eigenschaften nicht zukommen, diese erhöhte Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Kaninchen- und Pferdeserum trotz ihrer breiten Kapseln nicht erworben haben (vgl. Zusammenstellung No. 10, 12, 15 und 16). Die Nichtbeteiligung der Kapsel an der größeren Widerstandsfähigkeit so vorbehandelter Keime geht auch besonders klar und deutlich aus folgendem Versuche hervor: Es handelte sich hier um die schon mehrfach erwähnte 72-stündige Kaninchenserumkultur, in welcher außer 10 v. H. Sporen keine Kapselstäbchen, sondern nur kapsellose Stäbchen enthalten

Zusammenstellung No. 16.

Einwirkung des Pferdeserums (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf a = kapsellose, sporenfreie Stäbchen, b = Kapselstäbchen bei 37° C.

Laufende No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Kapsellose Stäbchen = Kapselstäbchen = aus	a b	Anzahl d. auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach							
						10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	IV	24 Std.	Schrägagar	a	10 000	6 000	4 000	2 000	1 500	200	200	5000	∞
			Kaninchenserum inaktiviert	b	10 000	6 000	5 000	3 000	3 000	250	400	8000	∞
			Pferdeserum	b	10 000	6 000	5 000	3 000	3 000	300	1000	∞	∞
			Pferdeserum inaktiviert	b	4 000	3 000	2 000	1 000	1 000	100	600	∞	∞
			Herzblut einer an Milzbrand verendet. Maus	b	300	60	30	20	20	2	0	0	0
2	I	24 Std.	Schrägagar	a	60 000	50 000	50 000	40 000	40 000	2000	∞	∞	∞
			Kaninchenserum 24 Std., dann Pferdeserum 15 Std., dann Schrägagar 14 Std.	a	60 000	55 000	55 000	50 000	50 000	3000	∞	∞	∞
			Kaninchenserum	b	60 000	50 000	50 000	40 000	40 000	1000	2000	∞	∞
			Pferdeserum	b	60 000	50 000	50 000	40 000	40 000	2000	∞	∞	∞
3	III	2 Std.	Schrägagar	a	1 500	1 200	600	200	150	30	20	800	∞
			Hammelserum	b	1 500	1 200	700	200	180	20	15	600	∞

waren. Trotzdem waren diese kapsellosen Stäbchen gegen neues Kaninchenserum viel widerstandsfähiger als andere bekapselte Milzbrandkeime, die ihren siegreichen Weg durch Kaninchenserum noch nicht genommen hatten (vgl. Zusammenstellung No. 17 lfd. No. 4 und 5).

Nach diesen Versuchen ist man wohl zu der Annahme berechtigt, daß sich der Kampf zwischen den Milzbrandkeimen und dem Kaninchenserum ohne Mitbeteiligung der Kapsel abspielt. Die Hauptmasse der eingebrachten Keime wird schon innerhalb weniger Minuten abgetötet, bis auf einige wenige, die infolge ihrer größeren Widerstandsfähigkeit der vernichtenden Wirkung des Serums entgehen. Doch auch von diesen unterliegen dann im weiteren Verlauf des Kampfes die meisten, und bei kleineren Einsaaten, zu deren Vernichtung von der milzbrandfeindlichen Kraft des Serums beim ersten Ansturm nur wenig verbraucht worden war, wohl auch sämtliche Keime. War die Anzahl der eingesäten Keime dagegen groß, und die zur Vernichtung ihrer Hauptmasse erforderliche milzbrandfeindliche Kraft des Serums bereits stark in Anspruch genommen, so gelingt es dem Serum im Laufe der Zeit nicht mehr, die stärkeren Keime sämtlich zu vernichten; es bleiben immer noch einige ganz besonders widerstandsfähige am Leben und können sich auch weiter entwickeln. Von ihren Nachkommen werden aber, da sie nicht sämtlich dieselbe Widerstandsfähigkeit besitzen, die meisten wiederum getötet, weil die Kraft des Serums nur zur Abtötung ganz besonders widerstandsfähiger Keime nicht mehr ausreicht, die widerstandsfähigeren bleiben aber am Leben, doch wahrscheinlich schon in etwas größerer Anzahl als ursprünglich. Daher ändert sich die Anzahl der lebenden Keime, nachdem sie auf einer bestimmten Grenze angekommen, anfangs nur wenig oder fast gar nicht. Im Laufe dieses immer wieder erneuten Kampfes werden die milzbrandfeindlichen Kräfte des Serums immer mehr und mehr verbraucht, die Zahl der widerstandsfähigen Keime nimmt immer mehr zu, und man kann endlich durch das Plattenverfahren eine fast plötzliche ungeheuer starke Vermehrung der Keime feststellen. Die Mehrzahl dieser Keime besitzt dann aber auch eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Kaninchenserum, weil sie aus dem immer wieder erneuten Kampfe als Sieger hervorgegangen ist, und auch durch Anpassung an diesen Kampf eine erhöhte Widerstandsfähigkeit sich angeeignet hat.

Wenn man sich diese Vorstellung macht, so findet man es auch verständlich und erklärlich, daß nach der ersten massenhaften Abtötung der eingesäten Keime die Anzahl der lebenden Keime bis zu etwa 24 Stunden immer noch abnimmt, dann aber fast unverändert bleibt und erst nach 48 oder gar erst nach 72 Stunden plötzlich steigt. Wollte man der Kapsel eine Schutzkraft in diesem Kampfe zuschreiben, so müßte eine Vermehrung der Keime gleich dann schon eintreten, wenn eine deutliche Kapsel nachzuweisen ist; dies ist aber nicht der Fall, sondern im Gegenteil, die starke Vermehrung tritt dann erst ein, wenn die größte Mehrzahl der Stäbchen schon ohne Kapseln wächst. Diese Vorstellung von der anfänglichen starken Abtötung und späteren Vermehrung der Keime läßt sich auch ohne Zuhilfenahme der Schutzwirkung der Kapsel auf die Vorgänge im lebenden Kaninchen leicht übertragen, und es wird erklärlich, warum das Kaninchen trotz der starken milzbrandabtötenden Kraft seiner Säfte nach etwa 48—72 Stunden dennoch an Milzbrand zugrunde geht. Auf die Vorgänge im lebenden Tiere komme ich noch später zurück.

Hier möchte ich noch auf die Frage eingehen, ob das Serum eines mit Milzbrand infizierten Kaninchens ebenso starke milzbrandfeindliche

Zusammenstellung No. 17.

Einwirkung des Serums von mit Milzbrand vorbehandelten Kaninchen (2,0 ccm in Glasröhrchen) auf Milzbrandkeime bei 37° C.

a = Kapsellose, sporenfreie Stäbchen, b = Kapselstäbchen, c = Sporen.

Laufende No.	Stamm-No.	Alter des Serums	Kapsellose Stäbchen = Kapselstäbchen = Sporen = aus	a b c	Anzahl d. auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm des Serums auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach								Bemerkungen
						10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	
Serum eines mit Kapselstäbchen in die Blutbahn geimpften und 30 Minuten darauf getöteten Kaninchens.														
1	V	3 Tage	Schrägagar (15 Std.)	a	6 000	600	200	50	50	12	1	0	0	
			Rinderserum (15 Std.)	b	6 000	2 000	1 500	1000	900	100	20	0	0	
			Schrägagar (14 Tage)	c	6 000	3 000	1 200	800	800	30	10	0	0	
Serum eines mit kapsellosen Stäbchen in die Blutbahn geimpften und 30 Minuten darauf getöteten Kaninchens.														
2	I	6 Tage	Bouillon (14 Std.)	a	20 000	12 000	8 000	4000	4000	2000	200	200	20 000	
			Hammelserum (14 Std.)	b	20 000	10 000	3 000	800	800	30	200	200	25 000	
			Schrägagar (6 Tage)	c	20 000	15 000	10 000	2000	1800	800	100	300	20 000	
Serum eines mit Milzbrand nicht vorbehandelten Kaninchens.														
3	I	4 Tage	Bouillon (14 Std.)	a	20 000	600	250	150	145	50	50	400	∞	Das Ser. dies. Kaninchens war 1 Std. n. d. Tode des Kaninchens hoch wirksam. Vergl. Zusst. No. 5 lfd. No. 1 und diese Zusst. lfd. No. 5
			Hammelserum (14 Std.)	b	20 000	700	250	200	180	100	90	400	∞	
			Schrägagar (6 Tage)	c	20 000	12 000	4 000	900	900	300	200	2000	∞	
Serum eines mit Sporen unter die Haut geimpften und 15 Stunden darauf getöteten Kaninchens.														
4	I	1 Std.	Schrägagar (14 Std.)	a	8 000	120	50	10	6	0	0	0	0	
			Hammelserum (14 Std.)	b	12 000	150	80	40	30	0	0	0	0	
			Kaninchenserum (14 Std.)	b	1 000	300	200	60	50	2	0	0	0	
			Kaninchenserum (72 Std.)	a u. 10 v. H. c	6 000	2 000	1 000	400	300	10	7	30*	1 000	* darunter 6 Sporen
			Impftasche desselben Kaninchens	b u. ganz ver-einz. a	8 000	1	0	0	0	0	0	0	0	
Serum eines mit Milzbrand nicht vorbehandelten Kaninchens.														
5	I	1 Std.	Schrägagar (14 Std.)	a	8 000	300	100	30	6	0	0	0	0	Nach 4 Tagen war dasselbe Ser. nur noch schwach wirksam. Vergl. diese Zusst. lfd. No. 3
			Hammelserum (14 Std.)	b	12 000	300	150	40	6	0	0	0	0	
			Kaninchenserum (14 Std.)	b	1 000	400	250	200	150	5	0	0	0	
			Kaninchenserum (72 Std.)	a u. 10 v. H. b	6 000	2 000	800	400	350	50	20	100*	2 000	* darunter 20 Sporen
			Impftasche desselben Kaninchens	b u. ganz ver-einz. a	8 000	5	0	0	0	0	0	0	0	

Eigenschaften besitzt, wie das Serum eines normalen Kaninchens. **Flügge** (36) hat festgestellt, daß die milzbrandfeindliche Wirkung des Kaninchenserums 36 Stunden nach der Impfung abgeschwächt war. Auch **Gamaleia** (42), **Wilde** (100), **Preisz** (84) u. a. haben im Laufe der Milzbrandinfektion eine Abnahme der milzbrandfeindlichen Kräfte des Serums, und endlich am Ende der Krankheit ihr völliges Verschwinden derselben beobachtet. **Bail** (8) hat bei frühzeitig entnommenen Blutproben eine Abschwächung der milzbrandfeindlichen Kraft nicht gesehen, und **Conradi** (25), der zu seinen Versuchen aus Meerschweinchen stammende, also bekapselte Stäbchen benutzt hatte, konnte feststellen, daß die Injektion von Milzbrandkeimen in die Blutbahn die milzbrandfeindliche Kraft des Serums nicht sofort aufhebt: Solange die Milzbrandkrankheit örtlich beschränkt ist, bleibt die milzbrandfeindliche Kraft des Serums erhalten; auch später, wenn das Blut von Milzbrandstäbchen überschwemmt ist, besitzt es doch noch kleinen Mengen gegenüber seine milzbrandfeindliche Wirkung. v. **Székely** und **Szana** (94) haben bei Milzbrand, solange er örtlich begrenzt war, in 3 Fällen eine Erhöhung der milzbrandfeindlichen Kraft des Blutes beobachtet, in 3 anderen Fällen aber nicht.

Nachdem ich festgestellt hatte, daß Milzbrandserum Kapselstäbchen mindestens ebenso kräftig abtötet wie kapsellose Stäbchen, und daß im Tierkörper gebildete Kapselstäbchen dem Kaninchenserum gegenüber eine noch geringere Widerstandsfähigkeit besaßen als außerhalb des Tierkörpers, im Serum gebildete Kapselstäbchen, warf ich die Frage auf, ob den im Tierkörper gebildeten Kapselstäbchen trotz alledem doch nicht eine gewisse schützende Kraft insofern zukommen könnte, als sie das Milzbrandstäbchen ausschließlich nur gegen die Säfte desjenigen Tieres schützt, in dem sie sich gebildet hat. Die hierüber gemachten Versuche sind in der Zusammenstellung No. 17 zu finden. Ich spritzte einem Kaninchen über 100 Millionen Kapselstäbchen in die Ohrvene und einem anderen etwa die gleiche Anzahl von im Hammelserum gewachsenen Kapselstäbchen. Nach 30 Minuten wurden beide Kaninchen getötet und ihr Serum auf seine milzbrandfeindliche Wirkung gegenüber Kapselstäbchen, kapsellosen Stäbchen und Sporen untersucht. Sofort nach der Tötung konnte das Serum zu diesen Untersuchungen nicht verwendet werden, weil sich, wie ich feststellen konnte, in dem Blute noch eine gewisse Menge der eingespritzten Stäbchen befand, deren Absterben erst abgewartet werden mußte. Aus äußeren Gründen konnte ich aber leider die Untersuchungen des Blutes erst 2 bezw. 6 Tage nach dem Tode der beiden Kaninchen vornehmen. Das bei 7° C aufbewahrte Blut beider Kaninchen war inzwischen schon keimfrei geworden. Zur Kontrolle benutzte ich ein 4 Tage altes normales Kaninchenserum, das sich im frischen Zustande als sehr wirksam erwiesen hatte. Nach 4 Tagen hatte es aber so viel von seiner milzbrandabtötenden Kraft verloren, daß 0,1 ccm des Serums 20000 Keime völlig abzutöten nicht mehr vermochte, weder Kapselstäbchen, noch unbekapselte Stäbchen, noch Sporen. Das 6 Tage alte Serum des mit kapsellosen Stäbchen vorbehandelten Kaninchens war in seiner Wirkung ähnlich dem vorgenannten 4-tägigen normalen Serum. Auch hier trat in 0,1 ccm Serum eine vollständige Abtötung der eingesäten 20000 Keime nicht ein. Auffallend war aber auch der Umstand, daß die Wirkung nicht sofort nach der Einsaat kräftig einsetzte, wie sonst beim Kaninchenserum und bei dem Kontrollversuche lfd. No. 3, sondern erst etwas später, ähnlich wie beim Pferdeserum, und daß ferner kapsellose Stäbchen langsamer abgetötet wurden als gekapselte

Stäbchen und Sporen. Eine ähnliche Widerstandsfähigkeit zeigten auch die bekapselten Stäbchen gegenüber dem 3 Tage alten Serum des anderen Kaninchens, das mit Kapselstäbchen vorbehandelt war; doch hier gelang es dem 3-tägigen Serum, sowohl Kapselstäbchen wie kapsellose Stäbchen und Sporen, allerdings nur bei einer Einsaat von 6000 auf 0,1 ccm völlig abzutöten. Aus diesen 3 Versuchen geht nur hervor, daß mehrere Tage altes normales, sowie von mit Milzbrandstäbchen vorbehandeltem Kaninchen stammendes Serum nach mehreren Tagen nicht mehr so wirksam ist, wie frisches Kaninchenserum. Ob aber auch der Vorbehandlung des Kaninchens mit Milzbrandstäbchen ein Anteil an der Abnahme der Eigenschaften des Serums zukommt, insbesondere derart, daß ein mit kapsellosen Stäbchen vorbehandeltes Kaninchen ein Serum liefert, welches gegen kapsellose Stäbchen schwächer wirkt, und ob eine derartige Abnahme der Wirkung auf Kapselstäbchen nach Behandlung des Kaninchens mit Kapselstäbchen eintritt, läßt sich aus diesen Versuchen nicht entnehmen, denn bei meinen Versuchen waren die benutzten Einsaaten nicht gleich groß, die 3 Sera hatten ein verschiedenes Alter, und es hat auch eine Prüfung der milzbrandfeindlichen Eigenschaften der Kaninchen vor der Einspritzung der Milzbrandkeime in die Blutbahn nicht stattgefunden. Nach dieser Richtung hin werde ich meine Versuche vervollständigen und wiederholen.

Dagegen lassen die unter lfd. No. 4 und 5 der Zusammenstellung No. 17 angeführten Versuche einen besseren Einblick in die tatsächlichen Verhältnisse gewinnen. Zu diesen Versuchen habe ich folgende Einsaaten verwendet:

1) 14-stündige Schrägagarkultur: Gleichmäßig und satt gefärbte Stäbchen ohne Kapseln und ohne Sporen.

2) 14 Stunden alte Hammelserumkultur: Fast alle Stäbchen mit Kapseln, nur wenige ohne Kapseln; die meisten Stäbchen satt und gleichmäßig, nur ganz vereinzelte lückenhaft gefärbt. Wenig leere Kapseln.

3) 14-stündige Kaninchenserumkultur: Zahlreiche lange Fäden und Stäbchen ohne Kapseln, die meisten Stäbchen und Fäden bekapselt. Kapsel 1—1$^1/_2$-fach. Färbung der Kapseln und Stäbchen zum großen Teil gleichmäßig satt, daneben alle Uebergangsformen des Zerfalls bis zu leeren Kapseln.

4) 72-stündige Kaninchenserumkultur: Schöne, lange, satt gefärbte Ketten und Fäden, an denen trotz Anwendung der verschiedensten Färbevorschriften eine Kapsel überhaupt nicht mehr nachzuweisen war. 0,1 ccm der Kultur ergibt auf der angelegten Platte nach Erwärmung auf 80° C 600 Keime, und 0,1 ccm ohne Erwärmung 60000 Keime.

5) Inhalt der Impftasche eines mit Sporen geimpften Kaninchens, 15 Stunden nach der Impfung, nach Zusatz von Kochsalzlösung aus der Impftasche mit dem Saugröhrchen entnommen: Nur wenige satt und gleichmäßig gefärbte kapsellose Stäbchen. Die meisten Stäbchen mit 1—1$^1/_2$-facher Kapsel versehen. Daneben alle Zerfallsformen bis zu leeren Kapseln.

Diese unter 1—5 genannten Keime wurden eingesät in 2,0 ccm:

1. 1 Stunde alten Serums eines normalen Kaninchens.

2. Des Serums des unter No. 5 genannten mit Milzbrandsporen unter die Haut geimpften Kaninchens, welches zu diesem Zwecke sofort nach Entnahme des Inhalts der Impftasche getötet wurde. Durch das Plattenverfahren konnten in dem Blute dieses Kaninchens Milzbrandkeime nicht nachgewiesen werden.

Wie aus der Zusammenstellung No. 17 lfd. No. 4 und 5 ersichtlich, wirkten beide Sera gegen kapsellose Stäbchen sehr kräftig. In beiden Fällen waren von 8000 auf 0,1 ccm eingesäten Keimen nach 1 Stunde nur noch 6 Keime lebensfähig. Nach 5 Stunden waren gar keine Keime mehr am Leben, doch war die Wirkung des Serums vom normalen Kaninchen in den ersten 10 Minuten schwächer als die Wirkung des Serums vom Milzbrandkaninchen. Aehnlich stark wirksam verhielten sich die beiden Sera auch zu den im Hammelserum gewachsenen Kapselstäbchen. Schwächer war dagegen die Wirkung der beiden Sera, wie es nach meinen früheren Ausführungen auch nicht anders zu erwarten war, gegenüber der 14 Stunden alten Kaninchenserumkultur. Hier erfolgte die Abtötung einer verhältnismäßig geringen Einsaat (1000 Keime auf 0,1 ccm) erst nach 24 Stunden. Die stärkere Wirkung des vom Milzbrandkaninchen stammenden Serums war hier aber unverkennbar, ebenso gegenüber der 72 Stunden alten Kaninchenserumkultur, in der sich außer 10 v. H. Sporen nur kapsellose Stäbchen befanden, aber keine Kapselstäbchen mehr. Denn die Anzahl der zu bestimmten Zeiten festgestellten lebenden Keime war im Serum des normalen Kaninchens stets größer als im Serum des Milzbrandkaninchens. Die Stäbchen, die sich im Laufe von 72 Stunden durch Kaninchenserum durchgerungen und ihre Kapseln abgeworfen hatten, besaßen, wie schon früher erwähnt, eine so große Widerstandsfähigkeit, daß eine vollständige Abtötung einer Einsaat von nur 6000 Keimen in 0,1 ccm nicht mehr zustande gekommen ist, weder im Serum des normalen Kaninchens noch des mit Milzbrand vorbehandelten Kaninchens. Ganz anders verhielten sich dagegen die aus der Impftasche des Kaninchens entnommenen, meist kapseltragenden Stäbchen dem Serum der beiden Kaninchen gegenüber. Schon nach 10 Minuten war von 8000 lebensfähigen Keimen in 0,1 ccm Serum desjenigen Kaninchens, in dessen Unterhaut sie sich entwickelt und mit Kapseln umgeben hatten, nur noch 1 Keim, und im Serum des anderen Kaninchens waren nur noch 5 Keime am Leben. Nach weiteren 10 Minuten waren in beiden Seris die eingesäten 8000 Keime völlig abgetötet.

Obwohl viele meiner Serumversuche noch nach mancher Richtung hin vervollständigt und wiederholt werden müssen, so ist man doch wohl jetzt schon berechtigt, die von mir festgestellten milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Kaninchenserums dahin zusammenzufassen:

Kaninchenserum wirkt nicht nur auf kapsellose, sondern auch auf bekapselte Milzbrandstäbchen und auch auf Milzbrandsporen stark abtötend. Die milzbrandfeindliche Wirkung des Kaninchenserums tritt so schnell ein, daß die Hauptmasse der eingesäten kapsellosen und bekapselten Stäbchen schon innerhalb der ersten 10 Minuten vernichtet wird. Von den eingesäten Sporen wird innerhalb der ersten 10 Minuten nur etwa die Hälfte abgetötet, dann erst erfolgt die weitere Abtötung in verhältnismäßig kurzer Zeit. An den Sporen gehen sofort nach dem Einbringen in Kaninchenserum gewisse mit der Keimung der Sporen im Zusammenhang stehende Veränderungen vor sich, die sie für die Einwirkung des Kaninchenserums empfänglich machen.

Die Widerstandsfähigkeit der Kapselstäbchen gegenüber dem Kaninchenserum ist durchaus nicht größer als die Widerstandsfähigkeit der nicht gekapselten Stäbchen.

Die in lebenden Tieren gebildeten Kapselstäbchen besitzen eine geringere Widerstandsfähigkeit als die aus Serum gewonnenen Kapselstäbchen. Die Kapselstäbchen werden auch im Serum desjenigen Kaninchens, in dessen Unterhaut sie sich gebildet haben, ebenso schnell, wenn nicht noch schneller, abgetötet als aus anderen lebenden Tieren oder dessen Säften stammende Kapselstäbchen.

Milzbrandkeime, die die schädlichen Einflüsse eines stark milzbrandfeindlichen Serums überwunden haben, besitzen auch eine größere Widerstandsfähigkeit gegenüber einem anderen stark milzbrandabtötenden Kaninchenserum.

Die milzbrandfeindliche Kraft des Serums eines mit Milzbrand unter die Haut geimpften Kaninchens ist in der ersten Zeit (15 Stunden) nach der Impfung erhöht.

IV. Die milzbrandfeindliche Wirkung der Unterhautflüssigkeit des Kaninchens.

Unterhautflüssigkeit verschaffte ich mir in der Weise, daß ich Kaninchen keimfrei gemachte Watte unter die Haut an der Schulter einbrachte, sie dann nach 14—15 Stunden herausnahm, im Glasröhrchen mit einem Glasstabe auspreßte und dann ausschleuderte. Mit der klaren, zellfreien Flüssigkeit stellte ich dann die Versuche in derselben Weise an, wie mit Serum.

Zusammenstellung No. 18.

Einwirkung der Unterhautflüssigkeit des Kaninchens (2 ccm in Glasröhrchen) auf Milzbrandkeime bei 37° C.

a = Sporenfreie kapsellose Stäbchen; b = Kapselstäbchen; c = Sporen.

Lfd. No.	Stamm-No.	Alter der Flüssigkeit	Kapsellose Stäbchen = Kapselstäbchen = Sporen = aus	a b c	Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm der Flüssigkeit auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach:							
						10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	I	2 Std.	Schrägagar (14 Stunden)	a	1500	800	600	400	400	100	0	0	0
			Schrägagar (3 Wochen)	c	6000	3000	1000	500	400	120	0	0	0
2	V	2 „	Bouillon	a	2000	1300	1000	20	20	10	60	500	∞
			Hammelserum	b	6000	3000	2500	60	50	0	0	0	0
			Schrägagar (8 Tage)	c	1200	1000	900	300	200	20	50	500	∞

Wie aus der Zusammenstellung No. 18 zu ersehen ist, besitzt die Unterhautflüssigkeit des Kaninchens ebenfalls milzbrandfeindliche Eigenschaften, wenn auch nicht in so hohem Maße wie Kaninchenserum. Kapsellose Stäbchen wurden nur in einem Falle völlig zerstört, und zwar bei einer Einsaat von 1500 Keimen auf 0,1 ccm innerhalb 24 Stunden. In einem anderen Falle waren von 2000 Stäbchen in 0,1 ccm nach 5 Stunden 10 Keime noch am Leben, und sie haben sich dann vermehrt. Die Unterhautflüssigkeit des Kaninchens tötet die Milzbrandstäbchen auch nicht so schnell ab wie Kaninchenserum, sondern langsamer, ähnlich wie Pferdeserum, doch tritt die Wirkung auf Sporen schneller ein als bei Pferdeserum. Am wirksamsten erwies sich die Unterhautflüssigkeit Kapselstäbchen gegenüber. Bei dem leider nur einen einzigen angestellten Versuche war von 60000 Kapselstäbchen nach 10 Minuten nur noch die Hälfte lebensfähig, und nach 5 Stunden waren sie sämtlich abgetötet. Diese Ergebnisse meiner allerdings nur wenigen Versuche mit der Unterhautflüssigkeit des Kaninchens stehen im Widerspruch mit den Angaben von Gruber und Futaki (46), nach denen 2-stündige Wattelymphe von Kaninchen zwar nicht ganz unwirksam war, aber in

25 Versuchen niemals vollständige Abtötung einer verhältnismäßig kleinen Einsaat zustande brachte. Gruber und Futaki haben aber 2-stündige Wattelymphe verwendet, während ich die Watte etwa 15 Stunden in der Unterhaut belassen und dann erst ausgepreßt habe. Ob die verschiedenen Ergebnisse auf diesen Umstand zurückzuführen sind, darüber müssen die Versuche noch fortgesetzt werden, zumal nach Gruber und Futaki Stauungslymphe des Kaninchens in der Regel etwas wirksamer ist als reine Wattelymphe.

V. Die milzbrandfeindliche Wirkung der farblosen Blutzellen des Kaninchens.

Farblose Blutzellen verschaffte ich mir durch Einspritzung von Aleuronat in die Brusthöhle von Kaninchen, die ich nach 14—15 Stunden tötete. Der Erguß aus der Brusthöhle wurde mit einem Saugröhrchen abgesogen, dann vorsichtig ausgeschleudert, und nach dreimaliger Waschung mit Kochsalzlösung wurden die farblosen Blutzellen in Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Auch das Blut des Kaninchens habe ich ausgeschleudert und dann gleichzeitig in der üblichen Weise Kontrollversuche angestellt mit dem Blutserum, mit der Kochsalzaufschwemmung der farblosen Blutzellen, mit dem zellfreien Exsudat und mit der zur dritten Waschung gebrauchten Kochsalzlösung (vgl. Zusammenstellung No. 19).

Das von den Zellen befreite Exsudat erwies sich ebenso wirksam wie das Blutserum und brachte, wie dieses, in jedem Falle eine vollständige Abtötung der Einsaaten von bekapselten und unbekapselten Stäbchen, sowie auch von Sporen zustande, wenn auch die Abtötung in den ersten Minuten nicht so schnell erfolgte wie im Serum. Ganz bedeutend schwächere Wirkungen zeigte dagegen die zur dritten Waschung benuzte Kochsalzlösung und ebenso die Aufschwemmung der farblosen Blutzellen. Diese brachten es in keinem einzigen Falle zur völligen Abtötung der Keime. In einem Falle erwies sich das dritte Waschwasser, in einem anderen wieder die Blutzellenaufschwemmung als wirksamer. In einem Falle erreichte die Abtötung schon nach 1 Stunde ihren Höhepunkt, wo etwa ein Drittel bis die Hälfte der eingesäten Keime abgetötet war, die anderen vermehrten sich dann wieder. Ein andermal dauerte die Abtötung aber noch bis zur 5. Stunde weiter fort. Eine größere oder geringere Widerstandsfähigkeit der einzelnen Formen des Milzbranderregers, der Kapselstäbchen, der kapsellosen Stäbchen oder der Sporen habe ich bei den genannten Versuchsflüssigkeiten durch das Plattenverfahren nicht feststellen können, insbesondere auch nicht eine größere Widerstandsfähigkeit der bekapselten Stäbchen gegenüber den farblosen Blutkörperchen.

Aus den Ergebnissen dieser Versuche kann gefolgert werden, daß die stark milzbrandabtötenden Stoffe des Kaninchens nicht in erster Linie von den farblosen Blutzellen abgegeben werden, und daß sie in ihnen selbst auch nicht enthalten sind. Wäre dies der Fall, dann müßte die Wirkung der farblosen Blutzellen und des Waschwassers stärker sein als die des zellfreien Exsudats und des Blutserums. Diese Schlußfolgerung entspricht auch den Angaben von Gruber und Futaki, nach denen die milzbrandfeindlichen Stoffe des Kaninchens nicht in den farblosen Blutzellen, sondern hauptsächlich in den Blutplättchen enthalten sind, von denen sie unter gewissen Bedingungen abgegeben werden. Nach der Richtung hin, ob die Quelle der milzbrandfeindlichen Stoffe

Zusammenstellung No. 19.

Vergleichende Versuche mit farblosen Blutzellen, Serum u. dgl. des Kaninchens (2 ccm in Glasröhrchen) auf Milzbrandkeime bei 37° C.

a = Kapsellose sporenfreie Stäbchen; b = Kapselstäbchen; c = Sporen.

Lfd. No.	Stamm-No.	Alter der Versuchsflüssigkeit	Kapsellose Stäbchen = a Kapselstäbchen = b Sporen = c aus		Anzahl der auf 0,1 ccm eingesäten Keime	Anzahl der in 0,1 ccm der Flüssigkeit auf Agarplatten aufgegangenen Keime nach:							
						10 Min.	20 Min.	40 Min.	1 Std.	5 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
			1. Blutserum.										
1	I	2 Std.	Schrägagar (12 Std.)	a	3000	350	200	10	8	1	0	0	0
			Schrägagar (4 Tage)	c	500	320	50	20	16	1	1	0	0
			2. Kochsalzaufschwemmung der farblosen Blutzellen.										
			Schrägagar (12 Std.)	a	3000	2500	2000	2000	2000	5000	∞	∞	∞
			Schrägagar (4 Tage)	c	500	400	200	150	150	200	800	∞	∞
			3. Exsudat der Brusthöhle, von Zellen befreit.										
			Schrägagar (12 Std.)	a	3000	500	400	200	180	20	0	0	0
			Schrägagar (4 Tage)	c	500	350	60	30	25	5	2	0	0
			4. Das zur dritten Waschung der Zellen verwendete Kochsalz.										
			Schrägagar (12 Std.)	a	3000	2600	2400	2000	2000	2000	∞	∞	∞
			Schrägagar (4 Tage)	c	500	400	350	300	300	300	500	1000	1000
			1. Blutserum.										
2	V	2 Std.	Bouillon (14 Std.)	a	2000	350	80	10	10	2	0	0	0
			Hammelserum (14 Std.)	b	6000	800	200	20	15	1	0	0	0
			Schrägagar (3 Min. 80°)	c	1200	600	50	20	20	5	0	0	0
			2. Kochsalzaufschwemmung der farblosen Blutzellen.										
			Bouillon (14 Std.)	a	2000	1200	1000	600	600	400	1500	∞	∞
			Hammelserum (14 Std.)	b	6000	3000	2500	1500	1500	1000	3000	∞	∞
			Schrägagar (3 Min. 80°)	c	1200	900	500	300	300	400	2000	∞	∞
			3. Exsudat der Brusthöhle, von Zellen befreit.										
			Bouillon (14 Std.)	a	2000	800	300	150	120	50	0	0	0
			Hammelserum (14 Std.)	b	6000	1000	500	200	150	50	0	0	0
			Schrägagar (3 Min. 80°)	c	1200	600	300	50	50	20	2	0	0
			4. Das zur dritten Waschung der Zellen verwendete Kochsalz.										
			Bouillon (14 Std.)	a	2000	1800	1800	1500	1500	1500	2500	∞	∞
			Hammelserum (14 Std.)	b	6000	5000	5000	4500	4500	4800	9000	∞	∞
			Schrägagar (3 Min. 80°)	c	1200	1200	1000	1000	900	800	1500	∞	∞

beim Kaninchen in den Blutplättchen liegt, habe ich die Sache nicht weiter verfolgt. Dahingegen habe ich darüber Versuche angestellt, ob eine Aufnahme lebender Milzbrandkeime durch die farblosen Blutzellen des Kaninchens im Glase stattfindet, oder ob nur eine „Berührung“ oder „Umklammerung“, wie es Gruber und Futaki angeben, zustande kommt, und wenn es der Fall ist, ob durch diese Vorgänge die Milzbrandstäbchen abgetötet werden oder nicht, und ob sich Kapselstäbchen und kapsellose Stäbchen in dieser Richtung hin gleich oder verschieden verhalten.

Zu diesem Zwecke habe ich größere Mengen der einzelnen Formen des Milzbranderregers, bekapselte Stäbchen, kapsellose Stäbchen und Sporen in Kochsalzaufschwemmungen ganz frisch gewonnener farbloser Blutzellen des Kaninchens eingebracht und ähnlich wie bei meinen Versuchen mit Serum im hängenden Tropfen beobachtet und in gefärbten Ausstrichen untersucht.

Versuch No. 1. Stamm V. Auf 2 ccm Aufschwemmung von farblosen Blutzellen werden bei 37° C eingesät:

A. 1 Oese 14-stündiger Bouillonkultur nach Ausschleuderung (kapsellose Stäbchen).

B. 1 Oese 14-stündiger Rinderserumkultur nach Ausschleuderung (bekapselte Stäbchen).

C. 1 Oese 14 Tage alter Schrägagarkultur nach vorheriger Erwärmung auf 80° C (Sporen).

Beobachtung im hängenden Tropfen:

Sofort nach der Einsaat:

A: Sehr zahlreiche Stäbchen und Fäden; die weitaus größte Mehrzahl der Stäbchen und Fäden liegt frei, ohne Berührung mit anderen Stäbchen und ohne Berührung mit farblosen Blutzellen. Vereinzelte Blutzellen sieht man jedoch auch Stäbchen dicht anliegen; die Zelle erscheint an der Berührungsfläche abgeflacht. Auch sieht man vereinzelt Blutzellen dicht am Ende eines Stäbchens und man kann verfolgen, wie sich die Blutzelle auf das Ende des Stäbchens hinaufschiebt, so daß nach einiger Zeit eine gewisse Aehnlichkeit mit einer langgestielten Birne erreicht wird. Auch zusammengeknäulte Klumpen von farblosen Blutzellen, in denen sich Stäbchen vorfinden, kann man beobachten. Veränderungen der Stäbchen an den Stellen, die mit farblosen Blutzellen in Berührung stehen, sind aber nicht zu erkennen. Im allgemeinen sind jedoch Umklammerungen und Berührungen zwischen Zellen und Stäbchen nur ganz vereinzelt anzutreffen, nicht einmal in jedem Gesichtsfelde.

B: Kapselstäbchen verhalten sich genau in derselben Weise den Blutzellen gegenüber wie unbekapselte Stäbchen. Auch hier liegen die meisten Stäbchen einzeln, frei; nur ganz vereinzelt sieht man Berührungen, Umklammerungen und Verklumpungen, genau wie bei den kapsellosen Stäbchen.

C: Die in lebhafter Bewegung befindlichen Sporen treiben vielfach den farblosen Blutzellen zu und werden von ihnen aufgenommen. Nach 10 Minuten langer Beobachtung hat schon eine große Anzahl von Blutzellen 2—6 Sporen aufgenommen, welche in den Zellenleibern stark lichtbrechend und hellglänzend erscheinen. Verklumpungen von Blutzellen mit dazwischenliegenden Sporen sieht man ebenso häufig wie bei A und B.

Nach 1 Stunde:

A: Im wesentlichen dieselben Bilder wie sofort nach der Einsaat: die meisten Stäbchen liegen frei ohne Berührung mit Zellen; man kann aber beobachten, daß einzelne Zellen an längeren Fäden eine völlige Umklammerung zustande gebracht haben, ähnlich wie eine auf eine Schnur gezogene Perle; auch 2—3 Umklammerungen habe ich an einem Faden beobachtet, aber mehr nicht. Höchst selten sieht man 2 Fäden durch eine Blutzelle durchgehen. Ganz vereinzelte Blutzellen enthalten auch in ihrem Inneren ganz kurze Stäbchen, an denen aber die Gliederung nicht zu erkennen ist.

B: Bei den bekapselten Stäbchen liegen die Verhältnisse ähnlich wie bei den kapsellosen; auch hier liegen die weitaus meisten Stäbchen vereinzelt; man sieht auch Verklumpungen mit dazwischengelagerten Fäden, vereinzelte Umklammerungen, Berührungen, sowie auch kurze Stäbchen, an denen aber die Gliederung nicht mehr erkennbar ist, innerhalb von Zellen.

C: Die meisten Sporen liegen frei, doch ist die Anzahl der innerhalb von Zellen liegenden Sporen schon größer, man findet 8—10 Sporen in einer Zelle; in vielen Zellen sind aber Sporan überhaupt nicht zu sehen.

Nach 5 Stunden:

A: Das Bild ist im wesentlichen dasselbe wie nach einer Stunde; die Zahl der Berührungen und Umklammerungen ist nicht größer, ebensowenig die Anzahl der gefressenen Stäbchen; die meisten Stäbchen liegen einzeln, eine große Anzahl von ihnen ist stark gequollen und ohne erkennbare Gliederung.

B: Auch die Kapselstäbchen verhalten sich ähnlich wie die kapsellosen, die Umklammerungen und Berührungen sind nicht zahlreicher als nach einer Stunde; ebensowenig ist die Zahl der gefressenen Stäbchen gestiegen; die meisten Stäbchen liegen frei und erscheinen vielfach wie leer, ohne Inhalt.

C: Zahl der gefressenen Sporen nicht größer als nach einer Stunde. An den freiliegenden Sporen, sowie an den innerhalb der Zellen befindlichen Sporen Veränderungen der Keimung deutlich erkennbar.

Versuch No. 2. Stamm III. Es werden genau in derselben Weise wie bei Versuch 1 drei Röhrchen im Wasserbade von 37° aufgestellt und in bestimmten Zeitabschnitten aus jedem Röhrchen gefärbte Ausstriche angefertigt.

Nach 10 Minuten:

A: Die weitaus größte Mehrzahl der kapsellosen Stäbchen und Zellen liegt frei. Vereinzelt sieht man Berührungen, aber keine Umklammerungen; kein Stäbchen innerhalb der Zellen. Zahlreiche freiliegende Stäbchen gequollen, lückenhaft gefärbt. Gliederung verwischt.

B: Auch die Kapselstäbchen liegen meist frei, ebenso die Zellen: Berührungen nur ganz vereinzelt. Umklammerungen und Stäbchen innerhalb der Zellen nicht bemerkbar. Kapsel vielfach matt gefärbt. Stäbchen innerhalb der Kapseln häufig wie angefressen, auch leere Kapseln schon vorhanden.

C: Die meisten Sporen liegen frei; viele von ihnen leicht gefärbt, in anderen schon ein Kern sichtbar. In vielen Zellen 2—4 Sporen, die zum Teil unverändert hellglänzend, zum Teil leicht gefärbt sind.

Nach 1 Stunde:

A: Stäbchen und Zellen liegen meist voneinander getrennt; ganz vereinzelt Umklammerungen und Berührungen zwischen Zellen und Stäbchen, auch Verklumpungen von Zellen mit dazwischenliegendem Stäbchen und Fäden vorhanden. An den freiliegenden Stäbchen sowohl wie an den zwischen und an den Zellen liegenden verschiedene Zerfallstufen. Stäbchen innerhalb von Zellen nicht bemerkbar.

B: Bilder wie bei A. Leere Kapseln zahlreicher, ebenso Stäbchen mit ganz schwach gefärbten Kapseln.

C: Die meisten Sporen liegen frei; manche Zellen enthalten schon 6—8 Sporen, die meisten Zellen weisen keine Sporen auf. Die in den Zellen liegenden, sowie die freiliegenden Sporen sind zum Teil ungefärbt, hellglänzend, zum Teil gefärbt mit deutlichem, gestrecktem, länglichem Kern.

Nach 5 Stunden:

A: Die meisten Stäbchen gut und gleichmäßig gefärbt wie frisch gewachsen, daneben alle Zerfallstufen; fast an allen Stäbchen eine schwache Kapsel erkennbar; das Verhalten der Stäbchen zu den Zellen zeigt keine wesentlichen Unterschiede gegenüber dem Verhalten nach einer Stunde. In ganz vereinzelten Zellen kurze, aber nur lückenhaft gefärbte und stark gequollene Stäbchen, an denen eine Gliederung nicht erkennbar ist.

B: Auch hier ist die Anzahl der gleichmäßig satt gefärbten, mit schwacher Kapsel versehenen Stäbchen größer als nach einer Stunde; auch im übrigen dasselbe Verhalten wie bei A. Vereinzelte Berührungen, Umklammerungen und Einlagerungen von kurzen Stäbchen, an denen weder eine Kapsel noch eine Gliederung erkennbar ist, innerhalb von Zellen.

C: Einige neugebildete, 4—6-gliedrige, sattgefärbte Stäbchen mit deutlicher, aber schmaler Kapsel außerhalb der Zellen. Viele Sporen noch hellglänzend, die meisten aber in der Keimung begriffen. In den Zellen, aber durchaus nicht in den meisten, 6—8—10 Sporen teils hellglänzend, teils in der Keimung begriffen, und daneben ganz schwach gefärbte rundliche Gebilde von der Größe der ursprünglichen Sporen, die aber keine Spur von innerem Bau zeigen; dieselben Gebilde auch außerhalb der Zellen.

Die angeführten Versuche ergeben in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen des Plattenverfahrens, daß den farblosen Blutzellen bei der Vernichtung der Milzbrandkeime im Glase eine entscheidende Rolle nicht zukommt. Bei den Sporen findet zwar eine gierige Aufnahme derselben durch die Blutzellen statt, und zwar sofort nach der Einsaat. Daß aber nicht nur in der Keimung begriffene oder abgetötete, sondern auch unveränderte, lebensfähige Sporen von den farblosen Blutzellen aufgenommen werden, geht daraus hervor, daß eine große Anzahl von den innerhalb der Zellen befindlichen Sporen hellglänzend und ungefärbt war. Die aufgefressenen Sporen werden auch nicht sofort abgetötet, denn noch nach 5 Stunden war eine große Anzahl derselben unverändert, und die verhältnismäßig geringe Anzahl der auf Agarplatten aufgegangenen Rasen erklärt sich zum großen Teil aus der Anhäufung der Sporen innerhalb einzelner Zellen.

Wesentlich anders verhalten sich die farblosen Blutzellen des Kaninchens den Milzbrandstäbchen gegenüber. Die weitaus größte Mehrzahl der Stäbchen bleibt außer Berührung mit den farblosen Blutzellen. Nur ganz vereinzelt trifft man Berührungen, Umklammerungen und Verklumpungen von Zellen und Stäbchen, und noch viel seltener, ja eigentlich nur ganz ausnahmsweise, eine vollständige Aufnahme von kurzen Stäbchen durch Zellen. Daß eine solche Aufnahme tatsächlich vorkommt, kann ich nach meinen Beobachtungen, die sich mit denen von **Preisz** decken, nicht in Abrede stellen, doch kann weder dieser Aufnahme, noch der Berührung, noch der Umklammerung, noch der Verklumpung ein wesentlicher Anteil an der Vernichtung der Milzbrandstäbchen zugeschrieben werden, denn die Anzahl der in Aufschwemmungen farbloser Blutzellen des Kaninchens zugrunde gehenden Milzbrandstäbchen ist bedeutend geringer als im Serum, und andererseits ungleich viel größer, als die Anzahl der im hängenden Tropfen und in gefärbten Ausstrichen zu beobachtenden Berührungen, Umklammerungen und Verklumpungen. Ich habe auch trotz stundenlanger Beobachtung niemals gesehen, daß eine farblose Blutzelle sich von einem mit ihr in Berührung stehenden Stäbchen löst und dann einem anderen Stäbchen zuwendet. Ebensowenig ist es mir auch gelungen, gefärbte Ausstriche herzustellen, in denen die innerhalb der Zellen befindlichen Stäbchen eine so gleichmäßig satte Färbung gezeigt hätten, wie die außerhalb der Zellen befindlichen Stäbchen. Ich muß daher mit Preisz annehmen, daß die gefressenen Stäbchen erst nach ihrem Tode in die farblosen Blutzellen des Kaninchens gelangen. Auch die Berührung und Umklammerung kann bei der Abtötung der Stäbchen eine wesentliche Rolle nicht spielen. Wenn die Berührung und Umklammerung, wie Gruber und Futaki behaupten, eine Abtötung der Milzbrandstäbchen bewirken sollte, so müßte man an den Berührungsstellen der Stäbchen oder an den ganzen berührten Stäbchen die ersten Anzeichen des Zerfalls nachweisen können. Dies ist aber nicht der Fall; die Berührungsstellen zeigen nicht stärkere Zerfallsveränderungen als andere Abschnitte desselben Stäbchens und alle diejenigen Stäbchen und Fäden, die ganz frei in der Flüssigkeit außer jeder Berührung mit Zellen stehen.

Irgend einen Unterschied in dem Verhalten zwischen den kapsellosen und den bekapselten Stäbchen habe ich nach dieser Richtung hin nicht feststellen können. Wenn Gruber und Futaki behaupten, daß Berührungen, Umklammerungen und Verklumpungen zwischen farblosen Blutzellen und den bekapselten Stäbchen nicht vorkommen, so kann ich das nach meinen Beobachtungen nicht bestätigen. Zugeben kann ich nur, daß eine gänzliche Aufnahme bekapselter Stäbchen durch Blutzellen noch seltener vorkommt als kapselloser Stäbchen. Doch möchte ich diese Erscheinung mit Preisz auf den das Stäbchen umgebenden Kapselschleim, also auf rein mechanische Ursachen, zurückführen und nicht, wie Gruber und Futaki annehmen, darauf, daß bekapselte Stäbchen die farblosen Zellen infolge ihrer Kapsel nicht anlocken.

Aus meinen Versuchen mit farblosen Blutzellen wäre demnach folgendes zu entnehmen:

Milzbrandsporen werden von farblosen Blutzellen gierig gefressen, im Gegensatz zu Milzbrandstäbchen, die nur ganz ausnahmsweise und nur ganz vereinzelt von farblosen Blutzellen aufgenommen werden.

Während die Sporen auch im unveränderten, lebensfähigen Zustande gefressen werden und nach der Aufnahme sich innerhalb der Zellen lebensfähig erhalten können, werden die Milzbrandstäbchen wahrscheinlich erst im abgetöteten Zustande aufgenommen.

Berührungen, Umklammerungen und Verklumpungen zwischen farblosen Blutzellen und Milzbrandstäbchen kommen bei bekapselten Stäbchen ebensogut vor wie bei unbekapselten, doch treten diese Erscheinungen nur so vereinzelt auf, so daß ihnen eine wesentliche Rolle bei der Abtötung der Milzbrandstäbchen nicht zugeschrieben werden kann.

VI. Verhalten der Milzbrandkeime im lebenden Kaninchen.

Nach meinen Versuchen über das Verhalten der Milzbrandkeime zu den Säften und Zellen des Körpers im Glase ging ich zu Versuchen mit lebenden Kaninchen über, um zu ermitteln, ob die Milzbrandkeime im lebenden Kaninchen sich in ähnlicher Weise verhalten oder ob und nach welcher Richtung hin Abweichungen bestehen. Ich impfte zu diesem Zwecke Kaninchen mit großen Mengen von Milzbrandkeimen, bekapselten und unbekapselten Stäbchen, sowie auch mit Sporen in die Bauchhöhle, unter die Haut und in die Blutbahn und verfolgte deren Schicksal nach der Richtung hin, ob auch hier eine Vernichtung der Milzbrandkeime in ähnlicher Weise wie im Glase stattfindet, ob an der Vernichtung die Körpersäfte oder die Körperzellen in erster Linie beteiligt sind, ob die Widerstandsfähigkeit der bekapselten Stäbchen auch im Körper nicht größer ist als die der unbekapselten, und ob überhaupt in dem Verhalten der bekapselten Stäbchen, der unbekapselten Stäbchen und der Sporen im Körper Unterschiede auftreten oder nicht. Wo es durchführbar war, habe ich diese Versuche mit den einzelnen Formen des Milzbranderregers gleichzeitig, mit denselben Stämmen und unter genau denselben Bedingungen angestellt.

a) Verhalten der Milzbrandkeime in der Bauchhöhle.

Versuch No. 1. Stamm V.

Kaninchen A, 2700 g schwer, erhält 1,0 ccm einer 14-stündigen Bouillonkultur, etwa 9 Mill. Keime enthaltend, in die Bauchhöhle gespritzt. Die Stäbchen und Fäden sind meist satt und gleichmäßig gefärbt, Kapsel- und Sporenbildung nicht erkennbar.

Kaninchen B, 2950 g schwer, erhält ebenso 1,0 ccm einer 14-stündigen Hammelserumkultur, etwa 8500000 Keime enthaltend. Die meisten Stäbchen besitzen eine 2—3-fache Kapsel, wenige Stäbchen ohne Kapseln, Sporenbildung nicht erkennbar.

Kaninchen C, 2800 g schwer, erhält ebenso 1,0 ccm einer 12 Tage alten Schrägagarkultur, etwa 12 Mill. Keime enthaltend, nach vorherigem Erwärmen auf 80°. Die Aufschwemmung enthält nur Sporen, die meisten sind hellglänzend, nicht färbbar.

In bestimmten Zeitabschnitten werden dann mit Glashaarröhrchen von jedem Kaninchen Proben entnommen und im hängenden Tropfen, sowie in gefärbten Ausstrichen untersucht.

Nach 10 Minuten:

Kaninchen A: Im hängenden Tropfen: Zahlreiche Stäbchen und Fäden, wenige farblose Blutzellen; keine Berührungen, Umklammerungen oder Verklumpungen bemerkbar, ebensowenig Milzbrandstäbchen innerhalb der Zellen. In gefärbten Ausstrichen: Zahlreiche Stäbchen und Fäden gequollen, lückenhaft gefärbt, Kapsel (nach Klett) angedeutet. Verhalten der Stäbchen zu den Zellen wie im hängenden Tropfen.

Kaninchen B: Im hängenden Tropfen: Ebenso wie bei A. In gefärbten Ausstrichen: Zahlreiche Stäbchen wie angefressen, Kapsel vielfach blaß gefärbt, vereinzelte leere Kapseln, im übrigen wie bei A.

Kaninchen C: Im hängenden Tropfen: Sporen hellglänzend, die freiliegenden in lebhafter Bewegung; in zahlreichen Zellen schon 2—6 Sporen; man kann die gierige Aufnahme der Sporen durch die Zellen deutlich beobachten. Die Sporen nähern sich in lebhafter Bewegung den Zellen, gelangen an ihren Rand, werden umschlungen und gelangen so in das Innere der Zellen. In gefärbten Ausstrichen: Verhältnis der Sporen zu den Zellen wie im hängenden Tropfen; die freien sowie die gefressenen Sporen meist hellglänzend, nicht gefärbt; wenige zeigen schon deutliche Färbung und einen runden Kern.

Nach 35 Minuten:

Kaninchen A: Im hängenden Tropfen: Anzahl der farblosen Blutzellen bedeutend größer, die Zahl der Stäbchen stark vermindert; vereinzelte Berührungen und Umklammerungen: Stäbchen innerhalb der Zellen nicht bemerkbar. In gefärbten Ausstrichen Zahl der gequollenen und lückenhaft gefärbten Stäbchen und Fäden größer als nach 10 Minuten; Kapsel schon angedeutet, aber noch immer schwach entwickelt; besonders an den zerfallenen Stäbchen (Färbung nach Klett) die rosarote Färbung deutlich erkennbar.

Kaninchen B: Im hängenden Tropfen: Auch hier ist die Zahl der farblosen Blutzellen bedeutend größer, die der Stäbchen bedeutend geringer; Berührungen und Umklammerungen ganz vereinzelt; Stäbchen innerhalb der Zellen nicht zu sehen. In gefärbten Ausstrichen: Zahl der leeren Kapseln und angefressenen Stäbchen größer als nach 10 Minuten.

Kaninchen C: Im hängenden Tropfen: Zahl der farblosen Zellen bedeutend vermehrt, fast sämtliche beherbergen Sporen; die einen nur 2—3, andere schon bis zu 20 Stück; einige Zellen sind so vollgepfropft mit Sporen, daß sie wie Erdbeeren oder Himbeeren aussehen. Zahl der freien Sporen bedeutend geringer. In gefärbten Ausstrichen: Die freien und ebenso die gefressenen Sporen teils unverändert, teils auf verschiedenen Anfangsstufen der Keimung.

Nach 5 Stunden:

Kaninchen A: Im hängenden Tropfen: Farblose Blutzellen stark vermehrt, Stäbchen nur vereinzelt sichtbar, höchst selten in Berührung mit Zellen; innerhalb der Zellen Stäbchen nicht zu sehen. In gefärbten Ausstrichen: Von den wenigen Stäbchen zeigen einige deutlich gefärbte Kapseln, andere sind stark gequollen, gekörnt, schollig zerfallen,

Kaninchen B: Im hängenden Tropfen und in gefärbten Ausstrichen: Dieselben Bilder wie bei Kaninchen A. Außerdem einige leere Kapseln, nur ganz schwach gefärbt.

Kaninchen C: Im hängenden Tropfen: Freie Sporen nur ganz vereinzelt; zahlreich dagegen in den farblosen Blutzellen. In gefärbten Ausstrichen: Stäbchen oder freie Sporen nicht vorhanden. Einige von den aufgefressenen Sporen hellglänzend, ungefärbt, andere ganz schwach gefärbt mit länglichem Kern, außerdem länglich-ovale Gebilde von der Größe der Sporen, die aber einen inneren Bau nicht mehr erkennen lassen.

Nach 24 Stunden:

Kaninchen A, B, C. Anzahl der weißen Blutzellen nicht viel größer als nach 5 Stunden; Stäbchen oder Sporen weder innerhalb noch außerhalb der Zellen nachweisbar.

Nach 72 Stunden:

Kaninchen A: Tot. Im Herzblut: Zahlreiche Stäbchen mit 1—$1\frac{1}{2}$-facher Kapsel. In der Milz: Kapsel schwächer, außerdem sehr zahlreiche Stäbchen ohne Kapsel.

Kaninchen B: Tot. Befund wie bei Kaninchen A.

Kaninchen C: Tot. Befund wie bei Kaninchen A.

Gleichzeitig mit den Kaninchen A, B, C erhalten 3 andere Kaninchen A', B', C' von denselben Kulturen je 1 ccm in die Bauchhöhle. Jedoch wird, um ein Eindringen der Keime in die Haut oder Unterhaut zu verhindern, in die eingestochene Impfnadel zuerst 1,0 ccm Kochsalzlösung eingespritzt, dann die Kultur und dann wieder Kochsalzlösung. Die Einstichstelle wird mit Sublimatlösung gründlich gewaschen, dann mit Jodoformwatte und Kollodium verschlossen. Proben aus der Bauchhöhle werden nicht entnommen.

Kaninchen A': Tot nach 66 Stunden.

Kaninchen B': Tot nach 72 Stunden.

Kaninchen C': Tot nach 54 Stunden.

Befund nach dem Tode wie bei den Kaninchen A, B und C.

Versuch No. 2. Stamm V.

Ein Kaninchen, 2500 g schwer, erhält 1,0 ccm einer 13-stündigen Bouillonkultur, etwa 10 Millionen Keime enthaltend, in die Bauchhöhle. Schöne sattgefärbte, kapsellose Stäbchen; Sporenbildung nicht erkennbar.

Nach 5 Minuten: Zahlreiche Stäbchen, wenig farblose Blutzellen, vereinzelt Berührungen und Umklammerungen; Stäbchen innerhalb der Zellen nicht vorhanden.

Nach 15 Minuten: Zahl der Stäbchen verringert, Zahl der farblosen Blutzellen vermehrt; sonst wie vor. Ein Tropfen ergibt auf der Agarplatte 200 Rasen.

Nach 30 Minuten: Weitere Zunahme der farblosen Blutzellen und Abnahme der Stäbchen. Berührungen und Umklammerungen nicht zahlreicher anzutreffen als nach 5 Minuten. Stäbchen innerhalb von Zellen nicht nachweisbar. In gefärbten Ausstrichen ist etwa die Hälfte der Stäbchen gequollen, gekörnt und schollig zerfallen. Die andere Hälfte gleichmäßig satt gefärbt; ganz geringe Anfänge der Kapselbildung bemerkbar. Ein Tropfen ergibt auf der Agarplatte 40 Keime.

Nach 45 Minuten: Das Kaninchen wird getötet. Im Herzblut Stäbchen mikroskopisch nicht zu finden, aus einer Oese Herzblut gehen auf der Agarplatte 16 Keime auf. In Ausstrichen aus der Milz Stäbchen ebenfalls nicht nachweisbar, auf der Agarplatte gehen aus einer Oese aus der Milz 12 Keime auf.

In der Leber, in den Nebennieren, in den Gekrösdrüsen und im Knochenmark sind weder mikroskopisch noch durch das Plattenverfahren Milzbrandkeime nachweisbar. Eine Oese aus der Lunge ergibt auf der Agarplatte 3 Keime.

Aus diesen Versuchen, die ich zu verschiedenen Malen wiederholt habe, geht zunächst hervor, daß sofort nach der Einspritzung von Milzbrandkeimen in die Bauchhöhle eine immer mehr und mehr zunehmende Einwanderung von farblosen Blutzellen in die Bauchhöhle stattfindet. Trotzdem habe ich aber nur nach der Einspritzung von Sporen eine Freßtätigkeit der farblosen Blutzellen eintreten sehen, und zwar mit noch viel größerer Gier als bei meinen Versuchen im Glase. Bei den Stäbchen dagegen kann man wohl vereinzelt Berührungen und Umklammerungen durch Zellen beobachten, aber eine wirkliche Aufnahme der Stäbchen durch Zellen habe ich in der Bauchhöhle des Kaninchens niemals gesehen, weder bei kapsellosen noch bei bekapselten Stäbchen. Wenn auch nach meinen Versuchen nicht in Abrede gestellt werden kann, daß auch in der Bauchhöhle, ähnlich wie im Glase, zuweilen Milzbrandstäbchen innerhalb der Zellen angetroffen werden können, so kann wohl einer solchen Aufnahme der Stäbchen eine bedeutende Rolle bei der Abtötung der Stäbchen nicht zukommen. Dahingegen konnte einwandsfrei nachgewiesen werden, daß von den gefressenen Milzbrandsporen 5 Stunden nach der Einspritzung eine große Anzahl noch nicht abgetötet waren, denn im hängenden Tropfen erschienen viele Sporen noch stark lichtbrechend, glänzend, in einfach gefärbten Ausstrichen ungefärbt, dagegen nach dem Kochen in Karbolfuchsin schön rot gefärbt.

Trotz dieser großen Verschiedenheit in dem Verhalten der Stäbchen und Sporen zu den farblosen Blutzellen findet aber doch eine starke Abtötung sowohl der Sporen wie der Stäbchen in der Bauchhöhle des Kaninchens statt. Wenn man auch mit Recht einwenden kann, daß die durch das Plattenverfahren und die mikroskopischen Untersuchungen festgestellte Abnahme der Keime zum großen Teil auf die Vermehrung der Flüssigkeit in der Bauchhöhle zurückzuführen ist, sowie auf den baldigen Uebergang von Keimen in das Blut und in die Organe (vgl. Versuch No. 2), so ist doch aus den Veränderungen, die an den eingespritzten Keimen festgestellt werden konnten, zweifellos zu ersehen, daß eine alsbald nach der Einspritzung einsetzende starke Vernichtung der Milzbrandkeime in der Bauchhöhle des Kaninchens vor sich geht, wie es auch Radziewsky (86 und 87) bei Meerschweinchen nachgewiesen hat. Einen Unterschied in dem Verhalten der kapsellosen und den bekapselten Stäbchen in der Bauchhöhle des Kaninchens habe ich nicht feststellen können. Auch habe ich nicht gesehen, daß Kaninchen, denen Kapselstäbchen eingespritzt werden, in kürzerer Zeit zugrunde gehen als mit kapsellosen Stäbchen in gleicher Weise geimpfte Kaninchen. Die von mir beobachteten geringen Schwankungen in der Krankheitsdauer treten auch sonst bei Verwendung derselben Kulturen auf. Ebensowenig wird die Dauer der Krankheit dadurch verlängert oder abgekürzt, daß man Sporen einspritzt, obwohl diese doch mit großer Gier von den farblosen Zellen gefressen werden.

Ueber die Schnelligkeit und den Umfang der in der Bauchhöhle des Kaninchens stattfindenden Vernichtung der Milzbrandkeime konnte ich zwar einen einwandsfreien zahlenmäßigen Beweis, wie bei meinen Versuchen im Glase, nicht erbringen; trotzdem geht aber aus den Versuchen doch hervor, daß sich die Verhältnisse in der Bauchhöhle des Kaninchens ähnlich gestalten wie in Aufschwemmungen von farblosen Blutzellen und in Körperflüssigkeiten im Glase, nämlich:

In der Bauchhöhle des Kaninchens findet eine Abtötung der ein-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

gespritzten Milzbrandkeime statt, sowohl der bekapselten als auch der nicht bekapselten Stäbchen, sowie der Sporen.

Gefressen von den farblosen Zellen werden eigentlich nur die Sporen, und zwar mit einer noch größeren Gier als im Glase, während eine Freßtätigkeit der Zellen gegenüber den Stäbchen kaum in Frage kommt.

Ein Unterschied in dem Verhalten der kapsellosen und der bekapselten Stäbchen in der Bauchhöhle des Kaninchens ist nicht nachweisbar.

Auf die Dauer der Zeit zwischen der Einspritzung und dem Tode des Kaninchens ist es ohne Einfluß, ob bekapselte oder unbekapselte Stäbchen oder Sporen in die Bauchhöhle eingespritzt werden.

b) Verhalten der Milzbrandkeime in der Unterhaut.

Versuch No. 1. Stamm V.

Von 3 Kaninchen, A, B und C, erhält unter die Haut am Bauche:

Kaninchen A: Schrägagarkultur, 13 Stunden alt, 1 Oese: Schön satt gefärbte Stäbchen ohne Kapseln und ohne Sporen.

Kaninchen B: Hammelserumkultur, 14 Stunden alt, ausgeschleudert, 1 Oese: Fast sämtliche Stäbchen mit 1—3-facher Kapsel, wenige Stäbchen ohne Kapseln.

Kaninchen C: Kochsalzaufschwemmung einer 8 Tage alten Schrägagarkultur nach Erwärmen auf 80° C ausgeschleudert, 1 Oese: Nur Sporen.

In bestimmten Zeitabschnitten werden aus der Impftasche Proben zu Ausstrichen entnommen. Färbung nach Klett, Giemsa, Gram, mit Kristallviolett und bei C außerdem noch Sporenfärbung (Kochen in Karbolfuchsin).

Nach 30 Minuten:

Kaninchen A: Die meisten Stäbchen wie angefressen und gequollen, lückenhaft gefärbt, nur wenige unversehrt; Kapselbildung schon gut erkennbar, besonders in den nach Klett gefärbten Ausstrichen sind die Lücken der Stäbchen rot; ebenso ist der rote Saum deutlich erkennbar.

Kaninchen B: Stäbchen innerhalb der Kapseln vielfach nur noch durch einen Strich angedeutet, auch leere Kapseln schon vorhanden; einige Stäbchen unversehrt, satt gefärbt; vereinzelte fremde Keime.

Kaninchen C: Zahlreiche Sporen freiliegend; viele von ihnen schon gut färbbar mit deutlich erkennbaren Kernen; die anderen hellglänzend; in den angesammelten farblosen Blutzellen zahlreiche Sporen von derselben Beschaffenheit wie die freiliegenden Sporen.

Nach 5 Stunden:

Kaninchen A: Sehr gut entwickelte Kapselstäbchen in großer Menge; zahlreiche zerfallene Stäbchen mit und ohne Kapsel. Gut erhaltene Stäbchen ohne Kapsel in geringerer Anzahl. Zahl der weißen Blutzellen beträchtlich größer, Stäbchen innerhalb der Zellen nicht zu finden.

Kaninchen B: Nur wenige satt gefärbte Stäbchen mit schönen Kapseln, vereinzelte Stäbchen ohne Kapseln; zahlreiche leere Kapseln sowie alle Stufen des Zerfalls. Anzahl der fremden Keime beträchtlich, ebenso der weißen Blutzellen; Stäbchen in den letzteren nicht vorhanden.

Kaninchen C: Zahlreiche Sporen freiliegend; in den stark angesammelten weißen Blutzellen viele Sporen, bis zu 15 Stück in einer Zelle. Die frei und innerhalb der Zellen liegenden Sporen teils hellglänzend, ungefärbt, teils auf verschiedenen Stufen der Keimung. Daneben schon zahlreiche 6—8-gliedrige Ketten mit 1—$1^1/_2$-facher, schön gefärbter Kapsel, auch einzelne leere Kapseln. In einer farblosen Blutzelle ein 6-gliedriges Stäbchen, schön satt gefärbt mit deutlicher Kapsel; in einer anderen farblosen Zelle ein eben solches 4-gliedriges Stäbchen und in vielen anderen Zellen keimende Sporen mit schon deutlich geteiltem Kern; daneben viele Gebilde von der Größe einer Spore, ganz matt gefärbt, ohne wahrnehmbaren inneren Bau.

Nach 24 Stunden:

Kaninchen A: Sehr zahlreiche Stäbchen; die weitaus größte Mehrzahl mit Kapseln, aber auch viele unbekapselte, gleichmäßig gut gefärbte Stäbchen, daneben im Zerfall begriffene kapsellose und gekapselte Stäbchen; viele leere Kapseln; Anzahl der farblosen Blutzellen bedeutend größer als nach 5 Stunden.

Kaninchen B: Milzbrandstäbchen überhaupt nicht mehr nachweisbar, auch keine leeren Kapseln oder Ueberreste von Milzbrandstäbchen; Anzahl der fremden Keime sehr stark vermehrt.

Kaninchen C: Viele Sporen noch hellglänzend, nicht gefärbt, sowohl frei als auch innerhalb von Zellen; im übrigen wie bei A. Unversehrte Stäbchen innerhalb der

Zellen nicht bemerkbar. In einem Ausstrich aus dem Ohrvenenblute ganz vereinzelte 2—6-gliedrige Stäbchen mit deutlicher Kapsel.

Nach 48 Stunden:

Kaninchen A: Tot. In der Impftasche Befund wie nach 24 Stunden, doch ist die Anzahl der Milzbrandkeime geringer. In der Milz ungeheuer zahlreiche gekapselte und ungekapselte Stäbchen, vielfach im Zerfall begriffen; im Blute weniger zahlreiche Stäbchen, die meisten bekapselt, Kapsel auch deutlicher als an den Stäbchen aus der Milz.

Kaninchen B: Ist am Leben. In der Impftasche Milzbrandstäbchen nicht nachweisbar; Anzahl der fremden Stäbchen bedeutend geringer. Das Kaninchen bleibt am Leben und wird nach 10 Tagen zu einem anderen Versuche benutzt (vgl. Abschn. VI c, Vers.-No. 2, B').

Kaninchen C: Tot. In der Impftasche sind neben auskeimenden auch noch hellglänzende, nicht gefärbte Sporen nachzuweisen, sowohl frei wie innerhalb von Zellen. Anzahl der Stäbchen wie bei Kaninchen A, aber bedeutend geringer. Befund in Milz- und Blutausstrichen wie bei Kaninchen A.

Außer den Kaninchen A, B, C werden gleichzeitig und in gleicher Weise 3 weitere Kaninchen A', B', C' geimpft. Die Wundränder werden mit Sublimatlösung gewaschen und mit Jodoformwatte und Kollodium verschlossen. Proben werden nicht entnommen. Sämtliche 3 Kaninchen, auch das Kaninchen B', verenden innerhalb 48—54 Stunden; Befund nach dem Tode wie bei den Kaninchen A, B, C.

Versuch No. 2. Stamm IV.

Von einer 13 Stunden alten Rinderserumkultur wird nach dem Ausschleudern 1 Oese in die Unterhaut am Bauche eines Kaninchens gebracht. Fast sämtliche Stäbchen mit 1—3-facher Kapsel, wenige unbekapselte Stäbchen.

Nach 20 Minuten:

Die meisten Stäbchen innerhalb der Kapsel wie angefressen, auch zahlreiche leere Kapseln, viele unbekapselte Stäbchen, teils gleichmäßig gefärbt, teils gekörnt, gequollen und schollig zerfallen. Die Kapseln an den gut erhaltenen, satt gefärbten Kapselstäbchen sind meist bedeutend schwächer gefärbt als vor der Impfung und auch schmäler. Einige Kapselstäbchen besitzen aber auch recht satt gefärbte Kapseln; Anzahl der farblosen Blutzellen nicht beträchtlich. Berührungen und Umklammerungen zwischen Stäbchen und Zellen nicht bemerkbar, ebensowenig Stäbchen innerhalb von Zellen.

Nach 40 Minuten:

Zerfall der Stäbchen und sonstiger Befund wie nach 20 Minuten, doch ist die Anzahl der Stäbchen, die mit satt gefärbten Kapseln versehen sind, größer (neugebildete Kapseln?) als nach 20 Minuten.

Nach 5 Stunden:

Anzahl der farblosen Blutzellen stark vermehrt; Umklammerungen von Stäbchen durch Zellen oder Stäbchen innerhalb von Zellen nicht nachweisbar; Zahl der zerfallenden Stäbchen bedeutend größer, ebenso der mit satt gefärbten Kapseln versehenen Stäbchen.

Nach 48 Stunden:

Kaninchen tot. In der Impftasche Anzahl der Milzbrandstäbchen bedeutend geringer als nach 5 Stunden, darunter schön bekapselte unversehrte Stäbchen und alle Stufen des Zerfalls bis zu leeren Kapseln und gequollenen, gekörnten und schollig zerfallenen kapsellosen Stäbchen; Stäbchen innerhalb der zahlreichen Blutzellen nicht bemerkbar. In der Milz und im Herzblut Befund wie beim Versuch No. 1.

Aehnliche Versuche habe ich wiederholt angestellt und auch Nebenversuche mit weißen Mäusen gemacht. Die Ergebnisse waren aber stets im wesentlichen dieselben. Nur die farblosen Blutzellen der weißen Mäuse scheinen eine noch viel größere Freßgier den Sporen gegenüber zu besitzen als beim Kaninchen. Von der Anführung weiterer Versuche nehme ich Abstand.

Verfolgt man die Vorgänge, welche sich nach der Einführung von Milzbrandkeimen unter die Haut des Kaninchens abspielen, so kann man zunächst eine stets zunehmende Einwanderung von weißen Blutzellen nach der Impftasche feststellen, ebenso wie nach der Einspritzung von Milzbrandkeimen in die Bauchhöhle. In dieser Beziehung stimmen meine Beobachtungen mit denen von Metschnikoff (65), Christmas (24), Lubarsch (63), Preisz (84) u. a. überein. Trotzdem aber eine Einwanderung von farblosen Blutzellen nach der Impftasche sofort

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

nach der Einführung jeder Form des Milzbranderregers, sowohl bekapselter und unbekapselter Stäbchen als auch von Sporen, eintritt, so kann doch eigentlich nur bei den Sporen von einer Aufnahme durch farblose Blutzellen die Rede sein; die Freßtätigkeit der Zellen tritt hier so schnell, so gierig und so massenhaft auf, daß manche Zellen wie Himbeeren oder Erdbeeren aussehen, so vollgepfropft sind sie von Sporen. Nach meinen Befunden kann es auch keinem Zweifel unterliegen, daß die Sporen im lebenden Zustande von den Zellen gefressen werden, denn viele von den innerhalb der Zellen liegenden Sporen besitzen noch ihre hellglänzende Beschaffenheit und nehmen die gewöhnlichen Farbstoffe nicht auf. Auch 24 Stunden nach der Impfung, ja sogar noch nach dem Tode des Kaninchens kann man noch unversehrte Sporen innerhalb von Zellen beobachten. Daß aber auch eine große Anzahl der gefressenen Sporen innerhalb der Zellen zugrunde geht, ersieht man daraus, daß sich nach 5 und auch noch nach 24 Stunden in den Zellen Gebilde zeigen, die nur ganz matt gefärbt sind, aber einen inneren Bau nicht mehr erkennen lassen, sondern nur durch ihre Form an Sporen erinnern. Eine gewisse Anzahl der gefressenen Sporen bleibt nicht nur am Leben, sondern sie keimt auch innerhalb der Zellen aus; man kann sogar, wie aus dem Versuch No. 1 C zu ersehen ist, wenn auch selten, frisch gebildete bekapselte Stäbchen innerhalb von Zellen antreffen, ebenso wie es Preisz bei der Maus beobachtet und abgebildet hat. Die gleichmäßig satte Färbung beweist. daß das Stäbchen innerhalb der Zellen lebend war, und da ich nur Sporen eingeimpft habe, so muß es ein frisch ausgekeimtes Stäbchen gewesen sein. Es ist nicht anzunehmen, daß es erst im fertig entwickelten Zustande von der Zelle aufgenommen ist, denn bei Impfungen mit Stäbchen habe ich in den Zellen des Kaninchens gleichmäßig satt gefärbte Stäbchen niemals beobachtet, sondern nur nach Impfungen mit Sporen.

Trotzdem aber die meisten Sporen in der Unterhaut von den Zellen gefressen werden, so bleibt doch auch immer noch eine gewisse Anzahl von ihnen außerhalb der Zellen und verhält sich hier genau ebenso wie die von den Zellen aufgefressenen Sporen: Die einen bleiben bis zu 24 Stunden und darüber unverändert, die anderen keimen aus, und von den in der Keimung begriffenen geht ein Teil zugrunde, der andere entwickelt sich zu gekapselten, und vereinzelt auch zu ungekapselten Stäbchen. Aus der Impftasche gelangen auch schon frühzeitig einzelne Stäbchen ins Blut (vgl. Versuch No. 1 C, nach 24 Stunden).

Wesentlich anders dagegen verhalten sich die farblosen Zellen den Milzbrandstäbchen gegenüber; auch hier findet nach der Impfung eine immer mehr zunehmende Einwanderung von farblosen Zellen statt; von einer Freßtätigkeit der Zellen ist aber den Stäbchen gegenüber in der Regel fast gar nichts zu sehen. Wenn ich auch nicht bezweifeln will, daß farblose Blutzellen des Kaninchens einmal vielleicht auch ein lebendes Milzbrandstäbchen aufzunehmen imstande sind, so habe ich doch bei meinen zahlreichen Versuchen niemals ein so gleichmäßig schön gefärbtes Milzbrandstäbchen innerhalb einer Zelle gesehen, wie ich es nach der Impfung mit Sporen beobachten konnte. Trifft man ausnahmsweise in der Impftasche des Kaninchens ein Milzbrandstäbchen innerhalb einer Zelle an, so ist es auch schollig oder körnig zerfallen, aber nicht gleichmäßig gefärbt. Der Freßtätigkeit der farblosen Blutzellen kann daher bei Einführung von Milzbrandstäbchen in die Unterhaut des Kaninchens eine wesentliche Rolle nicht zugestanden werden, ebenso-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

wenig der Umklammerung oder Berührung, die man wohl auch in der Impftasche, wenn auch noch seltener als in der Bauchhöhle oder im Glase, beobachten kann. Daß aber ein Zerfall der Milzbrandstäbchen in der Impftasche stattfindet, und zwar außerhalb der Zellen, geht nicht nur aus meinen Versuchen hervor, sondern auch aus den Versuchen von Nuttall (69), Flügge (36), Liakhowetzky (60), Preisz (84) u. a., die bei Kaninchen einen Untergang von Milzbrandstäbchen außerhalb der Zellen nachgewiesen haben. Für den Umfang des Untergangs der Milzbrandstäbchen in der Unterhaut kann ich leider zahlenmäßige Beweise nicht beibringen, wie für den Untergang der Stäbchen im Serum und in der Unterhautflüssigkeit im Glase. Den massenhaften Untergang kann man aber durch die Untersuchung gefärbter Ausstriche verfolgen: Die kapsellosen Stäbchen quellen auf, die Gliederung wird undeutlich, die Färbung lückenhaft, es tritt körniger und scholliger Zerfall ein; die Quellung ist jedoch in der Regel nicht so stark wie im Serum. Es sind nur wenige Stäbchen, die der Vernichtung entgehen und die am Leben gebliebenen umgeben sich in derselben Weise wie im Serum mit einer Kapsel. Schon innerhalb einer halben Stunde macht sich in der Unterhaut die Kapselbildung bemerkbar, ähnlich wie ich es früher (34) bei Mäusen gesehen habe, die mit stark faulenden Milzstücken von Milzbrandtieren geimpft wurden, in denen vor der Impfung Kapselstäbchen mit Sicherheit nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Ebenso wie bei den ungekapselten Stäbchen setzt auch alsbald nach der Einführung bekapselter Stäbchen unter der Haut des Kaninchens eine massenhafte Abtötung ein. Schon nach wenigen Minuten sieht man eine deutliche Auflösung: Die Stäbchenleiber werden innerhalb der Kapseln immer dünner, dann sieht man nur noch einzelne Punkte innerhalb der Kapseln, und nach 20—30 Minuten treten schon zahlreiche leere Kapseln auf. Aber es zerfallen nicht nur die Leiber der Kapselstäbchen, sondern es zeigt sich auch an den Kapseln der unversehrten, gleichmäßig gefärbten Stäbchen eine Rückbildung: Bald nach der Impfung färbt sich die Kapsel nicht mehr so satt wie vorher, sie wird auch schmäler und erst später, nach 2—5 Stunden kann man wiederum Kapseln beobachten, die sich voll und satt färben, ähnlich wie vor der Impfung, oder wie Kapseln, die sich frisch bilden, oder wie Kapseln der aus Sporen frisch ausgekeimten Stäbchen. Es macht den Eindruck, als ob die unter die Haut gebrachten Kapselstäbchen ihre mitgebrachte Kapsel erst abwerfen, um dann erst wieder neue Kapseln zu bilden, oder als ob zum mindesten eine stoffliche Umänderung an der alten Kapsel vor sich geht, die sich durch eine schwächere Aufnahme des Farbstoffes kundgibt.

Die Versuche mit Impfungen unter die Haut lassen demnach ebenfalls einen wesentlichen Unterschied in dem Verhalten der bekapselten und der unbekapselten Stäbchen nicht erkennen. Die in die Impftasche einwandernden Zellen nehmen unbekapselte Stäbchen in lebendem Zustande überhaupt nicht, oder vielleicht nur ganz ausnahmsweise auf; ganz genau so ist es bei den gekapselten: Die Mehrzahl der bekapselten Stäbchen geht ebenso wie der nicht bekapselten in der Unterhaut außerhalb der Zellen zugrunde. Einen Schutz gegen die milzbrandfeindlichen Kräfte des Kaninchens gewährt daher die Kapsel den Milzbrandstäbchen auch in der Unterhaut nicht. Wenn die Kapsel tatsächlich einen Schutz gewähren würde, dann müßten doch Tiere, denen gekapselte Stäbchen einverleibt werden, nicht nur schneller zugrunde gehen als mit kapsellosen Stäbchen geimpfte Tiere, sondern es dürfte ein Tier, in dessen Unterhaut sich Kapselstäbchen bereits gebildet haben, kaum mit dem Leben davon kommen. Das ist jedoch nicht der Fall, denn das Kaninchen B im Versuch No. 1, dem ich bekapselte Stäbchen unter die Haut eingeführt habe, und bei dem sich in der Impftasche auch neue Kapselstäbchen gebildet haben, ist trotzdem am Leben geblieben. Es ist ihm — vielleicht auch mit Hilfe der in die Impftasche gelangten fremden Keime — gelungen, nicht nur die eingeimpften, sondern auch alle neugebildeten Kapselstäbchen zu vernichten, und so dem Tode zu entgehen. Daß dieses Kaninchen aber nicht etwa deswegen leben geblieben ist, weil es gegen Milzbrand unempfänlich war, geht daraus hervor, daß es nach 10 Tagen einer erneuten Impfung mit Milzbrand ebenso erlegen ist wie andere normale Kaninchen (vgl. Abschnitt VI c, Vers.-No. 2, B').

Die von vielen Forschern und zuletzt auch von Gruber und Futaki (46—47) und Preisz (84) so nachdrücklich betonte Schutzwirkung der Milzbrandkapsel kann ich daher auf Grund meiner Versuche nicht anerkennen. Gruber und Futaki behandeln mehr die Schutzwirkung der Kapsel innerhalb der Blutbahn; darauf komme ich im nächsten Abschnitt zurück. Preisz hat dagegen auch Versuche mit Impfungen unter die Haut angestellt, und dabei gesehen, daß von der Maus stammende Milzbrandbacillen im Huhn um mehr als 4 Tage, in der Taube aber um ungefähr 2 Tage den frischen und kapsellosen Bacillus überleben. Aus diesen Versuchen geht aber, wie Preisz annimmt, nicht unbedingt hervor, daß die bekapselten Stäbchen deswegen länger am Leben geblieben sind, weil ihnen die Kapsel einen Schutz gewährt hat. Wenn die Schutzwirkung der Kapsel für die Stäbchen tatsächlich so groß wäre, dann hätten doch die Tiere, denen Kapselstäbchen einverleibt wurden, an Milzbrand zugrunde gehen müssen. Sie sind aber trotz der Einverleibung von Kapselstäbchen am Leben geblieben, und zwar deswegen, weil es unempfängliche Tiere waren, nämlich Hühner und Tauben. Aus den weiteren Versuchen von Preisz geht ferner hervor, daß sich bei unempfänglichen Tieren sogar an unbekapselt unter die Haut gebrachten Stäbchen Kapseln bilden können, ohne daß die Tiere an Milzbrand eingehen. „So fanden sich z. B. beim Huhn noch nach 26 Stunden gut gefärbte, zum Teil von 1—1$^1/_2$-fachen Kapseln umhüllte Bacillenketten; zugleich ergab die Kultur noch viele lebensfähige Keime; nach Verlauf von 2 Tagen waren jedoch weder Kapseln noch Lebensfähigkeit mehr nachweisbar. Noch lehrreicher ist in dieser Hinsicht der Versuch mit der Ente, wo 2 Tage nach der Impfung noch intensiv gefärbte, bekapselte Bacillen, am 3. Tage auch noch schmale Hüllen, am 4. Tage noch lebende Bacillen nachgewiesen werden konnten." Wenn die Kapsel einen Schutz gewähren würde, dann hätten doch die Ente und das Huhn, bei denen die unbekapselt eingeführten Stäbchen Zeit genug gefunden haben, um Kapselstäbchen zu bilden, und bei denen die Kapselstäbchen sogar noch nach 3—4 Tagen lebensfähig waren, an Milzbrand sterben müssen, denn durch die Kapsel waren die Stäbchen ja gegen die milzbrandfeindlichen Stoffe gesichert. Da die Tiere aber nicht gestorben sind, und sich nicht nur in empfänglichen, sondern auch in nichtempfänglichen Tieren Kapseln bilden, so kann die Kapselbildung eine entscheidende Rolle in dem Kampfe der Milzbrandkeime mit den milzbrandfeindlichen Kräften des Tierkörpers nicht spielen. Gegen die weitere Annahme von Preisz, wonach „die Kapsel die Milzbrandinfektion auch dadurch fördert, daß ihre Substanz, sich im Körper auflösend und verbreitend, dessen milzbrandfeindliche Stoffe mehr oder weniger unwirksam macht", habe ich schon in einem früheren Abschnitt meine Einwände erhoben, namentlich zu seinen Versuchen im Glase; zu seinen weiteren Versuchen mit lebenden Tieren will ich hier nur anführen, daß alle seine darauf gesetzten Erwartungen, wie **Preisz** selbst sagt, in dieser Hinsicht fehlgeschlagen sind.

Die Ergebnisse meiner Versuche über das Verhalten der Milzbrandkeime unter der Haut stimmen demnach im wesentlichen mit den in den vorherigen Abschnitten angeführten Versuchen überein:

Die in die Unterhaut des Kaninchens eingeführten Milzbrandsporen werden von den sich ansammelnden Zellen mit großer Gier gefressen. Sie gehen aber innerhalb der Zellen durchaus nicht sämtlich zugrunde, sondern sie können sich ebenso wie die freiliegenden Sporen lange lebend erhalten und ebenso wie diese auch innerhalb der Zellen zu Stäbchen entwickeln.

Den Milzbrandstäbchen gegenüber spielt die Freßtätigkeit der Zellen, trotzdem sich diese in der Impftasche immer mehr und mehr ansammeln, keine wesentliche Rolle. Die ausnahmsweise in Zellen anzutreffenden Stäbchen werden wahrscheinlich erst im abgetöteten Zustande von den Zellen aufgenommen.

Ein Unterschied in der Widerstandsfähigkeit und in dem sonstigen Verhalten der bekapselten und unbekapselten Stäbchen in der Unterhaut des Kaninchens ist nicht nachweisbar.

c) Verhalten der Milzbrandkeime in der Blutbahn.

Versuch No. 1. Stamm I.

Einspritzung in die Ohrvene:

Kaninchen A erhält 1,0 ccm einer 14 Stunden alten Bouillonkultur, etwa 9 Millionen kapsellose Stäbchen.

Kaninchen B 1,0 ccm einer 14 Stunden alten Hammelserumkultur, etwa 9 Millionen meist bekapselter Stäbchen.

Kaninchen C 1,0 ccm einer Kochsalzaufschwemmung einer 3 Wochen alten Schrägagarkultur, nach Erwärmen auf 80° C, etwa 13 Millionen Sporen enthaltend.

Um ein Eindringen der Keime in die Unterhaut und in die Gewebe zu verhindern, wird in die eingestochene Nadel zuerst 1,0 ccm Kochsalzlösung eingespritzt, dann die Kultur, und dann wieder 2,0 ccm Kochsalz nachgespritzt. Die Einstichstelle wird mit Sublimatlösung gewaschen, dann ein Verband von in Sublimat getränkter Watte angelegt. Nach 1 Stunde wird der Verband abgenommen und die Einstichstelle mit Jodoformwatte und Kollodium verschlossen.

Kaninchen A: Tod nach 40 Stunden. Im Herzblut zahlreiche Stäbchen, fast sämtlich mit schöner Kapsel. In der Milz Stäbchen ungeheuer zahlreich; Kapseln nicht so gut entwickelt wie an dem Stäbchen aus dem Blute; zahlreiche Stäbchen ohne Kapsel.

Kaninchen B: Tod nach 48 Stunden. Befund wie bei Kaninchen A.
Kaninchen C: Tod in 40 Stunden. Befund wie bei Kaninchen A.

Versuch No. 2. Stamm III.

Einspritzung in die Ohrvene unter denselben Vorsichtsmaßregeln wie bei Versuch 1.

Kaninchen A erhält 2,0 ccm einer 13-stündigen Bouillonkultur, etwa 20 Millionen kapsellose sporenfreie Stäbchen enthaltend.

Kaninchen B erhält 2,0 ccm einer 13-stündigen Kultur aus inaktiviertem Rinderserum, etwa 20 Millionen meist bekapselte Stäbchen enthaltend.

Kaninchen B′ erhält die gleiche Einspritzung wie Kaninchen B. Es ist dasselbe Kaninchen, welches 10 Tage vorher mit Kapselstäbchen unter die Haut geimpft wurde, aber am Leben geblieben ist. (Vgl. Abschnitt V. b, Versuch No. 1, B.)

Kaninchen C erhält 2,0 ccm einer Kochsalzaufschwemmung von einer 6 Tage alten Schrägagarkultur nach vorherigem Erwärmen auf 80° C, etwa 20 Millionen Sporen enthaltend.

Kaninchen A: Tod nach 48 Stunden. Befund wie bei Versuch 1.
Kaninchen B: Tod nach 48 Stunden. Befund wie bei Versuch 1.
Kaninchen B′: Tod nach 48 Stunden. Befund wie bei Versuch 1.
Kaninchen C: Tod nach 54 Stunden. Befund wie bei Versuch 1.

Durch diese Versuche sollte zunächst festgestellt werden, ob die Zeitdauer von der Einspritzung bis zum Tode irgendwie davon abhängt, daß kapsellose Stäbchen, bekapselte Stäbchen oder Sporen in die Blutbahn eingespritzt werden. Diese Feststellung erschien besonders wichtig, denn die Sporen werden, wie aus meinen bisherigen Versuchen hervorgeht, von den farblosen Blutzellen gierig gefressen, während eine Aufnahme der Stäbchen durch Blutzellen kaum in Frage kommt. Ferner wird von den wiederholt erwähnten Forschern betont, daß die Kapseln die Milzbrandstäbchen gegen die Abwehrkräfte des Körpers schützen. Insbesondere haben Gruber und Futaki nach dieser Richtung hin zahlreiche Versuche angestellt und gefunden, daß unbekapselte Stäbchen in die Blutbahn des Kaninchens eingespritzt, ebenso wie im Glase, von den farblosen Blutzellen sofort aufs energischste angegriffen und umklammert werden, während die bekapselten Stäbchen die farblosen Blutzellen nicht mehr anlocken; danach soll die Kapsel das Milzbrandstäbchen nicht nur gegen die farblosen Blutzellen schützen, sondern auch gegen das Plakanthrakocidin, das von den Blutplättchen ausgeschieden wird und das hauptsächlichste Verteidigungsmittel des Kaninchens gegen die Milzbrandstäbchen darstellen soll.

Wenn die Annahme von Gruber und Futaki bezüglich der des Kapselschutzes zutreffend wäre, dann hätten die Kaninchen B und B' zuerst verenden müssen, weil die denselben eingespritzten Milzbrandstäbchen die Schutzkapsel gleich von vornherein besaßen und sich daher sofort ungehindert hätten vermehren können. Die mit kapsellosen Stäbchen geimpften Kaninchen A und A' hätten dagegen viel später verenden müssen, weil die kapsellosen Stäbchen ungeschützt den Abwehrkräften des Kaninchens gegenüberstanden und erst nach langem Kampfe und erst nach Bildung einer Schutzkapsel siegreich hervorgehen konnten. Schließlich mußte auch, wenn man den farblosen Blutzellen eine wesentliche Rolle in dem Kampfe mit Milzbrandkeimen zuschreiben wollte, angenommen werden, daß die mit Sporen geimpften Kaninchen bedeutend länger am Leben bleiben werden, weil die Sporen von den farblosen Blutzellen aufgenommen werden. Diese Erwartungen sind jedoch nicht eingetroffen; die Kaninchen sind sämtlich fast zu derselben Zeit verendet: der Unterschied von 6 Stunden im Versuch 2 spielt hierbei keine wesentliche Rolle. Die Schutzwirkung der Kapsel und die Bedeutung der starken Freßtätigkeit der farblosen Blutzellen gegenüber den Sporen wurden demnach durch meine Versuche mindestens in Frage gestellt. Ich ging daher dazu über, das Schicksal der in die Blutbahn eingespritzten Milzbrandkeime in ähnlicher Weise weiterzuverfolgen, wie es Werigo (97) getan hat. Zu diesem Zwecke impfte ich noch größere Mengen von Milzbrandkeimen in die Ohrvene und entnahm in gewissen Zwischenräumen aus der Vene des anderen Ohres Blutproben zur Anfertigung von Ausstrichen und zum Anlegen von Agarplatten. Zu jeder Platte wurde stets je 1 Oese Ohrvenenblut verwendet. Nach einer gewissen Zeit wurde das Kaninchen getötet und das Blut sowie verschiedene Organe durch Anlegen von Agarplatten (1 Oese auf 1 Platte) und durch mikroskopische Untersuchung von Ausstrichen und Schnitten daraufhin untersucht, ob in den betreffenden Körperteilen Milzbrandkeime vorhanden waren, in welchen Gewebsteilen sie sich befanden, und ob bezw. welche Veränderungen an ihnen eingetreten waren.

Versuch No. 3. Stamm V.

3 ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur, etwa 33 Millionen Keime enthaltend, werden einem Kaninchen in die Ohrvene gespritzt; die Stäbchen besitzen keine Kapseln, aber schon zahlreiche Sporen; auch viele freiliegende Sporen bereits vorhanden.

Untersuchung von Blutproben aus der Vene des anderen Ohres:

Nach 2 Minuten: Freie Sporen oder Stäbchen nicht zu finden. Zahl der farblosen Blutzellen nicht vermehrt; in einigen von ihnen 2—3 Sporen; Agarplatte: 400 Keime.

Nach 4 Minuten: Vereinzelte Stäbchen, 2—4-gliedrig mit Sporen, außerhalb der Zellen; Zahl der farblosen Blutzellen anscheinend verringert, darunter einige bis zu 6 Sporen enthaltend. Agarplatte: 300 Keime.

Nach 6 Minuten: Mikroskopischer Befund wie nach 4 Minuten; Platte: 200 Keime.

Nach 8 Minuten: Anzahl der farblosen Blutzellen anscheinend noch geringer, darunter nur wenige mit 2—4 Sporen; Agarplatte: 50 Keime.

Nach 10 Minuten: 2—4 Sporen in einigen farblosen Blutzellen; auch vereinzelte 2—4-gliedrige, sporentragende Stäbchen außerhalb der Zellen; Agarplatte: 20 Keime.

Nach 10 Minuten wird das Kaninchen getötet. Leber: Vereinzelte kurze Stäbchen außerhalb der Zellen; in den farblosen Blutzellen, auch in den Leberzellen und in den Endothelzellen der Blutgefäße vereinzelte Sporen. Agarplatte: 600 Keime. Milz: Freie Sporen ganz vereinzelt, ebenso ganz vereinzelte Stäbchen außerhalb der Zellen; in den kleineren Milzzellen bis zu 4 Sporen deutlich erkennbar; Agarplatte: 600 Keime. Lunge: Stäbchen und Sporen in Ausstrichen nicht bemerkbar; Agarplatte: 100 Keime. Herzblut: Vereinzelte freie Sporen und Stäbchen; in einigen Zellen bis zu 4 Sporen. Agarplatte: 15 Keime. Knochenmark: In den kleinen Zellen bis zu 10 Sporen; auch in den großen Zellen vereinzelte Sporen bemerkbar; freie Sporen nicht zu finden; Agarplatte: 500 Keime. Nebennieren: In einigen Zellen bis zu 3 Sporen, freie Sporen nicht nachweisbar; Agarplatte: 20 Keime.

Untersuchung der Schnitte: Lunge: Bis zu 6 Sporen in einigen farblosen Blutzellen sowie in Epithelzellen; innerhalb der Blutgefäße zahlreiche freie Sporen und Stäbchen, meist gequollen und lückenhaft gefärbt. Leber: Sporen in farblosen Blutzellen, Leberzellen und Endothelzellen; außerdem freie Sporen in den Blutgefäßen; viele Stäbchen und Fäden außerhalb der Zellen, gequollen, lückenhaft gefärbt. Milz: Sehr zahlreiche Sporen innerhalb der Zellen; Stäbchen und Fäden nur vereinzelt, aber außerhalb der Zellen. Knochenmark: Sporen und Fäden wie in der Milz.

Versuch No. 4. Stamm IV.

10,0 ccm einer 13 Stunden alten Kultur aus inaktiviertem Rinderserum, etwa 80 Millionen meist bekapselter Stäbchen enthaltend, in die Ohrvene.

Blutproben aus Vene des anderen Ohres:

Nach 5 Minuten: Vereinzelte Stäbchen, Kapsel nur schwach gefärbt, Stäbchenleiber wie angefressen. Agarplatte: 100 Keime.

Nach 10 Minuten: Kapseln entweder gar nicht zu sehen oder ganz schmal und schwach gefärbt; vereinzelte leere Kapseln; in anderen Kapseln Stäbchenleiber nur noch schwach angedeutet. Agarplatte: 50 Keime.

Nach 12 Minuten: Nur ein einziges gequollenes, lückenhaft gefärbtes, sechsgliederiges Stäbchen ohne Kapsel in einem Ausstriche nachweisbar; in farblosen Blutzellen Stäbchen nicht zu sehen. Agarplatte: 15 Keime.

Nach 14 Minuten: In Ausstrichen Stäbchen nicht nachweisbar. Agarplatte: 1 Keim.

Nach 15 Minuten wird das Kaninchen getötet. Leber: In Ausstrichen: Wenige zerfallende Stäbchen, Kapseln kaum erkennbar. In Schnitten: Die Stäbchen liegen in den Blutgefäßen, außerhalb der Zellen. Platte: 400 Keime. Milz: Ausstriche: Stäbchen nicht zu finden. Schnitte: Zerfallende Stäbchen außerhalb der Zellen. Agarplatte: 300 Keime. Lunge: Ausstriche: Stäbchen nicht zu finden. Schnitte: Vereinzelte zerfallende Stäbchen. Kapseln ganz schmal oder überhaupt nicht nachweisbar. Agarplatte: 50 Keime. Herzblut: Ausstriche: Stäbchen nicht zu finden. Agarplatte: 12 Keime. Knochenmark: Ausstriche: Wenige Stäbchen auf allen Zerfallstufen; leere Kapseln nicht nachweisbar. Schnitte: Innerhalb der Zellen Stäbchen nicht vorhanden. Agarplatte: 450 Keime. Nieren: Ausstriche: Stäbchen nicht nachweisbar. Agarplatte: 10 Keime.

Versuch No. 5. Stamm I.

6,0 ccm einer 13-stündigen Hammelserumkultur, etwa 60 Millionen meist bekapselte Stäbchen enthaltend, in die Ohrvene eines Kaninchens.

Blutproben aus der Vene des anderen Ohres:

Nach 5 Minuten: In Ausstrichen: Stäbchen nicht zu finden. Agarplatte: 80 Keime.

Nach 10 Minuten: In Ausstrichen: Vereinzelte 4—6-gliederige Stäbchen, Kapsel ganz schmal und nur schwach gefärbt, Stäbchenleiber meist sehr stark angefressen. Agarplatte: 30 Keime.

Nach 15 Minuten: In Ausstrichen: Stäbchen nicht zu finden. Agarplatte: 3 Keime.

Nach 20 Minuten wird das Kaninchen getötet. Schnitte werden nicht angefertigt. Niere: Ausstriche: Vereinzelte Stäbchen außerhalb der Zellen stark zerfallen. Platte: 30 Keime. Milz: Ausstriche: Stäbchen nicht nachweisbar. Platte: 80 Keime. Lunge: Ausstrich und Platte: 0 Keime. Herzblut: Ausstrich und Platte: 0 Keime. Knochenmark: Ausstrich: Vereinzelte Stäbchen außerhalb der Zellen, Kapsel nur angedeutet, Leiber zerfallen. Platte: 90 Keime.

Versuch No. 6. Stamm III.

7,0 ccm einer 12-stündigen Bouillonkultur, etwa 70 Millionen kapsellose Stäbchen enthaltend, erhält ein Kaninchen in die Ohrvene.

Blutproben aus dem anderen Ohr:

Nach 5 Minuten: Ausstriche: Vereinzelte gekörnte und lückenhaft gefärbte Stäbchen. Platte: 100 Keime.

Nach 10 Minuten: Ausstriche wie vor. Platte: 40 Keime.

Nach 15 Minuten: Ausstriche: Stäbchen nicht nachweisbar. Platte: 18 Keime.

Nach 20 Minuten wird das Kaninchen getötet. Leber: In Ausstrichen vereinzelte Stäbchen, meist gekörnt und lückenhaft gefärbt. In Schnitten: Stäbchen nur außerhalb der Zellen. Platte: 80 Keime. Lunge: In Ausstrichen: Meist lückenhaft gefärbte, gequollene Stäbchen. Schnitte: Zahlreiche Stäbchen in den kleinsten Blutgefäßen außerhalb der Zellen, meist körnig zerfallen und lückenhaft gefärbt. Platte: 120 Keime. Herzblut: In Ausstrichen: Vereinzelte zerfallende Stäbchen. Platte: 70 Keime. Knochenmark: In Ausstrichen: Nur ganz vereinzelte zerfallende Stäbchen außerhalb der Zellen. Schnitte: Ebenso. Platte: 100 Keime.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß von den in die Blutbahn des Kaninchens gespritzten Milzbrandkeimen eine große Anzahl vernichtet wird, und zwar sofort nach der Einspritzung, ähnlich wie ich es bei meinen Versuchen mit Serum feststellen konnte. Ferner ersieht man aus den Versuchen, daß sich innerhalb weniger Minuten nicht nur die farblosen Blutzellen, sondern auch andere Zellen des Tierkörpers, wie die Endothel-, Leber-, Milz-, Knochenmarkzellen und andere der Milzbrandsporen sofort bemächtigen. Dahingegen habe ich im Gegensatz zu Werigo bei keinem einzigen meiner Versuche Milzbrandstäbchen innerhalb der Körperzellen nachweisen können, doch soll nicht in Abrede gestellt werden, daß ausnahmsweise auch vereinzelte Stäbchen von Körperzellen aufgenommen werden können, ähnlich wie ich es bei meinen früheren Versuchen vereinzelt beobachtet habe. Die Abtötung der Milzbrandstäbchen geht aber außerhalb der Zellen vor sich. Das geht nicht nur daraus hervor, daß sie aus der Blutbahn verschwinden und in Zellen nicht nachzuweisen sind, sondern auch aus den Veränderungen, die man an den Stäbchen sofort nach der Einspritzung in die Blutbahn beobachten kann. Die Veränderungen entsprechen genau denjenigen, wie sie beim Zerfall der Stäbchen im Serum oder in der Bauchhöhle des Kaninchens beobachtet werden können. Was aber gegenüber den Behauptungen von Gruber und Futaki und Preisz ganz besonders hervorzuheben ist, ist der Umstand, daß sich bekapselte Stäbchen nach der Einspritzung in die Blutbahn des Kaninchens durchaus nicht anders verhalten als unbekapselte Stäbchen, sondern daß Kapselstäbchen in der Blutbahn in derselben Weise und ebenso schnell vernichtet werden wie kapsellose Stäbchen. Diese Tatsache steht aber nicht in Uebereinstimmung mit der bisherigen Vorstellung über die Bedeutung der Milzbrandkapsel und über den Schutz, den sie den Milzbrandstäbchen innerhalb der Blutbahn gewähren soll. Gegen meine Versuche kann man auch mit Recht folgendes einwenden: Die von mir in die Blutbahn eingespritzten Keime verteilen sich derartig auf die einzelnen Organe, daß sie, obwohl in großen Mengen eingespritzt, in den kleinen Proben, die ich untersucht habe, in größerer Anzahl, als wie festgestellt, gar nicht auftreten können. Die durch das Plattenverfahren gewonnenen Zahlen können demnach auch kein bindender Beweis dafür sein, daß in so kurzer Zeit eine massenhafte Abtötung der Milzbrandkeime in der Blutbahn des Kaninchens tatsächlich erfolgt ist.

Um diesen Einwand zu beseitigen, habe ich die weiteren Versuche in folgender Weise angestellt, um zahlenmäßige Beweise für die schnelle Vernichtung der Milzbrandkeime zu liefern: Die zu den Versuchen verwendeten Kaninchen wurden vor der Impfung gewogen. Nach der Tötung wurde auch das Gewicht des Blutes sowie der einzelnen Organe und Körperteile durch Wägung festgestellt. Von verschiedenen Organen wurden dann bestimmte Gewichtsmengen entnommen, in keimfrei gemachten Porzellanschälchen mit Kochsalzlösung fein verrieben und die so gewonnene Aufschwemmung auf eine große Anzahl von Agarplatten ausgesät. Aus der Anzahl der auf den einzelnen Platten aufgegangenen Keime wurde dann der Gehalt der Keime für die ganzen Organe berechnet. Für die übrigen Teile des Tierkörpers, aus denen Platten nicht angelegt worden sind, wurde die Anzahl der Keime geschätzt und die so ermittelte Anzahl der Keime von der Anzahl der eingespritzten Keime abgezogen. Mit Rücksicht darauf, daß auch nach der Tötung des Kaninchens eine weitere Abtötung der Milzbrandkeime möglich war, wurde das ganze Verfahren mit größter Beschleunigung vorgenommen. Die Platten, die flüssigen Agarröhrchen und die keimfrei gemachten Porzellanschälchen waren vor der Einspritzung schon bereitgestellt, und nach der Tötung wurden nicht zuerst die Wägungen der ganzen Körperteile und Organe vorgenommen, sondern zunächst die zu den Agarplatten zu verwendenden Organstücke abgewogen. Diese wurden dann sofort unter Mitwirkung von Hilfskräften verrieben und zu Platten verwendet. In höchstens 10—15 Minuten nach der Tötung waren die Agarplatten bereits fertiggestellt.

Versuch No. 7. Stamm V.

13-stündige Rinderserumkultur; die meisten Stäbchen mit 1—2-fachen Kapseln; wenige Stäbchen ohne Kapseln; 0,01 ccm der Kultur enthält 97 500 Keime; 1,0 ccm demnach 9 750 000 Keime. 13,0 ccm dieser Kultur, etwa 126 750 000 Keime enthaltend, werden einem 2670 g schweren Kaninchen in die Ohrvene gespritzt.

Blutprobe aus dem anderen Ohr:
Nach 15 Minuten: Platte: 35 Keime.
Nach 25 Minuten: Platte: 9 Keime.
Nach 30 Minuten wird das Kaninchen getötet und Platten angelegt aus:

1) Blut:	in 2,0 g	(10 Platten)	waren enthalten	470 Keime
2) Leber:	„ 1,0 „	(20 „)	„ „	7530 „
3) Milz:	„ 0,4 „	(10 „)	„ „	4800 „
4) Nieren:	„ 0,4 „	(12 „)	„ „	1160 „
5) Knochenmark:	„ 0,5 „	(15 „)	„ „	150 „

Demnach waren enthalten in:

1 g Blut	235	Keime
1 „ Leber	7 530	„
1 „ Milz	12 000	„
1 „ Nieren	2 900	„
1 „ Knochenmark	300	„

Die Wägungen der einzelnen Organe und Körperteile des Kaninchens haben folgende Zahlen ergeben:

Kaninchen	2670,0 g
dazu die Einspritzung	13,0 „
zusammen	2683,0 g

Leber	97,5 g	
Milz	1,3 „	
Nieren	13,5 „	
Blut (beim Ausbluten gewonnen)	92,0 „	
Haut	290,0 „	
Eingeweide	674,0 „	
Knochen, Muskeln u. dgl.	1510,0 „	zusammen 2678,3 g
Es fehlen		4,7 g,

die auf das beim Auffangen vorbeigeflossene Blut und auf den abgegangenen Kot in Anrechnung gebracht werden müssen.

Zur Feststellung des Verhältnisses zwischen den Gewichten des Knochenmarkes und der Röhrenknochen wurde ein Vorder- und ein Hinterschenkel gewogen. Das Gewicht betrug 49,5 g, das in ihnen enthaltene Knochenmark 5,5 g. Von den Knochen aller vier Schenkel betrug das Gewicht 99 g, das Knochenmark wog 11 g. Das Verhältnis des Gewichts der Röhrenknochen zu dem Knochenmark verhält sich demnach wie 9 : 1.

Nach den durch die Wägungen und durch das Plattenverfahren festgestellten Zahlen läßt sich die Anzahl der Keime in den auf ihren Keimgehalt untersuchten Organen, wie folgt, berechnen:

1) Blut:	1 g =	235 Keime;	92,0 g =	21 620 Keime
2) Leber:	1 „ =	7 530 „	97,5 „ =	734 175 „
3) Milz:	1 „ =	12 000 „	1,3 „ =	15 600 „
4) Nieren:	1 „ =	2 900 „	13,5 „ =	39 150 „
5) Knochenmark:	1 „ =	300 „	11,0 „ =	3 300 „
			zusammen	813 845 Keime

Bei den übrigen Organen und Körperteilen läßt sich der Keimgehalt in folgender Weise annähernd abschätzen:

1) **Blut**: Das Kaninchen enthält nach den Angaben von **Welcker**, **Heidenhain** und **Panum** an Blut $^1/_{18}$ seines Körpergewichts. Das Kaninchen wog 2670 g : 18 = 148,3 g, rund 150 g. Von 92 g ist der Keimgehalt schon berechnet; es verbleiben demnach 150,0 g — 92,0 g = 58,0 g; 1,0 g enthält = 235 Keime, 58,0 g enthalten 235 × 58 = 13 630 Keime

Diese Zahl dürfte insofern zu hoch gegriffen sein, als der Keimgehalt der blutreichen Organe einschließlich des in ihnen enthaltenen Blutes schon besonders berechnet worden ist.

2) **Lymphdrüsen**: Werden auf höchstens 5,0 g geschätzt und ihr Keimgehalt wie in der Milz auf 12 000 in 1,0 g angenommen; 12 000 × 5 = 60 000 „

3) **Muskeln, Knochen u. dgl.**: Gewicht 1510,0 g. Ihr Gehalt an Keimen dürfte im höchsten Falle dem Gehalt an Keimen im Knochenmark gleichkommen, in 1,0 g = 300 Keime; in 1510 g = 1510 × 300 = 453 000 „

Auch diese Zahl dürfte sehr hoch gegriffen sein, denn für das in den Knochen enthaltene Knochenmark ist der Keimgehalt schon besonders berechnet, ebenso für das Blut, das in den Muskeln, Knochen u. dgl. nach dem Tode des Kaninchens noch enthalten war. Schließlich ist auch der Gehalt an Keimen in den Muskeln in der Regel nur gering.

4) Die **Haut** hat gewogen 290 g. Davon ist abzuziehen $^1/_5$ auf Haare u. dgl. Der Gehalt an Keimen dürfte höchstens derselbe sein wie im Knochenmark, das ergibt: 290 — 58 = 232, rund 230 g; 230 × 300 = 69 000 „

5) **Eingeweide** wogen 674 g. Davon dürfte abzuziehen sein auf Darminhalt $^3/_4$ des Gewichts, und der Keimgehalt ist wie im Knochenmark anzunehmen. Das ergibt: 674 — 505 = 169, rund 170 g; 170 × 300 = 51 000 „

zusammen 646 630 Keime

Zusammenstellung:

1) In den untersuchten Organen berechnet auf:	813 845 Keime
2) In übrigen Körperteilen geschätzt auf:	646 630 „
zusammen	1 460 475 Keime
Eingespritzt wurden	126 750 000 Keime
Nach 30 Minuten waren noch vorhanden	1 460 475 „
Demnach sind innerhalb 30 Minuten vernichtet worden	125 289 525, rund 125 000 000 Keime

Der Keimgehalt des Kaninchens nach 30 Minuten läßt sich auch noch auf eine andere Art berechnen.

Das Kaninchen wog einschließlich der Einspritzung rund 2780 g.

Davon sind abzuziehen:

1) Untersuchte Organe: 215,3 g
2) Darminhalt: 505,0 „
3) Haare u. dgl.: 58,0 „

zusammen 778,3 g, rund 780 g

Es bleibt zu schätzen der Keimgehalt in: 2000 g.

Der Keimgehalt in diesen Körperteilen ist höchstens ebenso anzunehmen wie im Knochenmark, zumal die blutreichen Organe und das Blut schon besonders berechnet sind. Das ergibt 2000 × 300 = 600 000 Keime

Demnach enthielt das Kaninchen 30 Minuten nach der Einspritzung:
1) In den untersuchten Organen berechnet auf: 813 845 Keime
2) In den anderen Körperteilen geschätzt auf: 600 000 „

zusammen 1 413 845 Keime

Eingespritzt wurden: 126 750 000 Keime
Nach 30 Minuten waren vorhanden: 1 413 845 „

Innerhalb 30 Minuten sind demnach vernichtet: 125 336 155, rund 125 000 000 Keime

Versuch No. 8. Stamm V.

13-stündige Bouillonkultur. Stäbchen ohne Kapseln und ohne Sporen. 0,01 ccm der Kultur enthält 90 000 Keime. 1,0 ccm enthält 9 Millionen Keime; 15,0 ccm enthalten 135 Millionen Keime. Diese werden einem Kaninchen in die Ohrvene gespritzt. Blutproben aus dem anderen Ohr werden nicht entnommen. Nach 30 Minuten wird das Kaninchen getötet und aus folgenden Teilen Platten angelegt:

1) Blut:	2,0 g	(12 Platten)	enthalten 450 Keime,	1 g	enthält 225	Keime
2) Leber:	0,8 „	(18 „)	„ 5730 „	1 „	„ 7 162	„
3) Milz:	0,4 „	(10 „)	„ 5050 „	1 „	„ 12 525	„
4) Nieren:	0,4 „	(15 „)	„ 1760 „	1 „	„ 4 400	„
5) Knochenmark:	0,3 „	(20 „)	„ 120 „	1 „	„ 400	„

Die Wägungen des Kaninchens und seiner einzelnen Teile haben folgende Zahlen ergeben:

Das Kaninchen wog vor der Einspritzung 2400,0 g
dazu die Einspritzung 15,0 „

zusammen 2415,0 g

Die einzelnen Körperteile haben gewogen:

Leber	89,0 g	
Milz	1,6 „	
Nieren	18,1 „	
Blut (entleert bei der Tötung)	88,0 „	
Lunge	7,6 „	
Herz	8,5 „	
Thymusdrüse und Nebennieren	1,8 „	
Magen und Darm	508,0 „	
Haut	279,0 „	
Fleisch, Knochen usw.	1415,0 „	2415,6 „

zusammen 2415,6 g = Unterschied von 0,6 g.

Die Röhrenknochen wogen 90 g, das Knochenmark demnach 10 g.

Die Anzahl der Keime in den untersuchten Organen läßt sich, wie folgt, berechnen:

1) Blut: 1 g enthält 225 Keime, 88,0 g = 225 × 88 = 19 800 Keime
2) Leber: 1 „ „ 7 162 „ 89,0 „ = 7 162 × 89 = 637 418 „
3) Milz: 1 „ „ 12 625 „ 1,6 „ = 12 625 × 1,6 = 20 200 „
4) Nieren: 1 „ „ 4 400 „ 18,1 „ = 4 400 × 18,1 = 77 440 „
5) Knochenmark: 1 „ „ 400 „ 10,0 „ = 400 × 10 = 4 000 „

206,7 g enthalten 758 858 Keime

Bei den übrigen Organen und Körperteilen läßt sich der Keimgehalt unter denselben Voraussetzungen wie bei Versuch No. 7 folgendermaßen berechnen:

1) Blut: Gewicht des Kaninchen 2415 g;
$^1/_{18}$ davon = 134 g, rund 140 g;
hiervon abgerechnet 88 „ entleertes Blut:

bleiben 52 g

1 g Blut enthält 225 Keime; 52 g = 225 × 52 = 12 750 Keime
2) Lunge, Herz, Thymusdrüsen, Nebennieren:
wiegen zusammen 17,9 g × 4000 = 71 600 „
3) Muskeln u. dgl.: wiegen 1415 g × 400 = 566 000 „
4) Haut: wiegt 297 g;
davon ab $^1/_4$ für Haare, bleiben 223 g × 400 = 89 200 „
5) Magen und Darm: 508 g;
davon $^3/_4$ ab auf Inhalt, bleiben 127 g × 400 = 50 800 „
Zusammen 790 350 Keime

Zusammenstellung:

1) In den untersuchten Organen berechnet auf: 758 858 Keime
2) In den übrigen Organen geschätzt auf: 790 350 „
Zusammen 1 549 208 Keime

Eingespritzt wurden: 135 000 000 Keime
Nach 30 Minuten waren noch am Leben: 1 549 208 „
Innerhalb 30 Minuten demnach vernichtet: 133 450 792, rund 133 000 000 Keime.

Eine andere Art der Berechnung:
Das Gewicht des Kaninchens betrug einschließlich der Einspritzung: 2415,0 g
davon gehen ab:
1) auf die untersuchten Organe: 206,7 g
2) auf die Haut: 56,0 „
3) auf den Darminhalt: 381,0 „ zusammen 643,7 „
bleiben 1771,3 g, rund 1772 g

1) In 1,0 g sind, wie im Knochenmark, 400 Keime anzunehmen;
in 1772 g demnach 1772 g × 400 = 708 800 Keime
2) In den untersuchten Organen wurden berechnet: 758 858 „
Zusammen 1 467 658 Keime

Eingespritzt wurden: 135 000 000 Keime
Nach 30 Minuten waren noch lebensfähig: 1 467 658 „
Innerhalb 30 Minuten sind demnach vernichtet: 133 532 342, rund 133 000 000 Keime

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß innerhalb $^1/_2$ Stunde von den in die Blutbahn des Kaninchens eingespritzten 135 Millionen kapselloser Stäbchen nur noch etwa $1^1/_2$ Millionen lebensfähig waren und etwa $133^1/_2$ Millionen innerhalb 30 Minuten vernichtet worden sind. In eben derselben Zeit sind aber auch von $126^3/_4$ Millionen bekapselter Stäbchen ebenfalls nur etwa über $1^1/_2$ Millionen Stäbchen am Leben geblieben; etwa 125 Millionen sind in der kurzen Zeit von 30 Minuten in der Blutbahn des Kaninchens ebenfalls zugrunde gegangen. Daraus ersieht man, daß die Widerstandsfähigkeit der bekapselten Stäbchen in der Blutbahn des Kaninchens durchaus nicht größer ist als die der kapsellosen Stäbchen. In beiden Fällen sind nämlich über 99 v. H. von den eingespritzten Keimen zugrunde gegangen, und zwar, wie aus den Versuchen No. 3 und 6 zu ersehen ist, in den Körpersäften, außerhalb der Körperzellen.

Mit Sporen habe ich einen ähnlichen Versuch nicht gemacht, weil infolge der Anhäufung der Sporen in verschiedenen Körperzellen die auf Platten aufgehenden Rasen ein richtiges Bild von der Anzahl der noch lebensfähigen Keime nicht ergeben hätten.

Wenn man auch gegen die Anordnung meiner Versuche, insbesondere auch vielleicht gegen die Berechnung der in den einzelnen Körperteilen vorhandenen lebensfähigen Stäbchen, verschiedene Einwände machen kann, so kann es sich doch nur um einige wenige Millionen handeln, die gegen die 133 Millionen, beziehungsweise die 125 Millionen zugrunde gegangener Stäbchen kaum ins Gewicht fallen können, und daher wohl kaum imstande sind, die Tatsache zu entkräften, daß die Hauptmasse der in die Blutbahn gespritzten unbekapselten wie auch der bekapselten

Stäbchen schon innerhalb weniger Minuten außerhalb der Körperzellen zugrunde geht.

Meine Versuche über das Verhalten der Milzbrandkeime in der Blutbahn ergeben demnach etwa folgendes:

Bei der Einführung großer Mengen von Milzbrandstäbchen in die Blutbahn wird schon innerhalb weniger Minuten die Hauptmasse der eingeführten Stäbchen (etwa 99 v. H. in $^1/_2$ Stunde) abgetötet.

Die Abtötung der Milzbrandstäbchen in der Blutbahn erfolgt ebenso massenhaft und ebenso schnell bei bekapselten wie bei unbekapselten Stäbchen, und zwar außerhalb der Körperzellen.

Die Freßtätigkeit der Körperzellen spielt, wenn sie überhaupt in Frage kommt, bei der Vernichtung der Milzbrandstäbchen im Blute keine wesentliche Rolle.

Dahingegen werden die Milzbrandsporen nicht nur von den farblosen Blutzellen, sondern auch von anderen Zellen des Körpers und seiner Organe mit großer Gier sofort nach der Einspritzung gefressen.

Trotz dieser großen Verschiedenheit in dem Verhalten der Körperzellen zu den Milzbrandstäbchen und zu den Milzbrandsporen hängt die Zeitdauer von der Einspritzung der Keime bis zum Tode des Kaninchens nicht davon ab, ob Milzbrandsporen oder Milzbrandstäbchen, bekapselte oder unbekapselte, in die Blutbahn eingespritzt werden.

Die Ergebnisse meiner Versuche lassen sich dahin zusammenfassen:

I. Werden Milzbrandsporen in geeignete Nährböden gebracht, so treten an ihnen sofort, innerhalb weniger Minuten, Veränderungen auf, welche als der Ausdruck der beginnenden Keimung anzusehen sind.

Mit dem Beginn der Keimung verlieren die Milzbrandsporen ihre Widerstandsfähigkeit gegen hohe Hitzegrade und andere schädliche Einflüsse.

Physiologische Kochsalzlösung ist für die Sporenkeimung kein besonders günstiger Boden, denn innerhalb 5 Stunden bei 37° C setzt die Keimung kaum bei der Hälfte der eingesäten Sporen ein. Günstiger ist dagegen Leitungswasser, in welchem schon innerhalb 1 Stunde etwa die Hälfte der eingesäten Sporen zu keimen beginnt.

In Bouillon von 37° C setzt die Keimung sofort nach der Einsaat, und zwar so massenhaft und so schnell ein, daß 10 Minuten nach der Einsaat nur noch einige wenige und nach 1 Stunde nur noch ganz vereinzelte, in ihrer Widerstandsfähigkeit unveränderte Sporen angetroffen werden.

Im Kaninchenserum beginnt die Sporenkeimung im wesentlichen ebenso schnell wie in Bouillon, aber nicht ganz so stürmisch, ebenso im Ziegenserum, Schweineserum, dann im Hühner- und Hundeserum und etwas langsamer im Pferdeserum, Rinderserum, Meerschweinchenserum und schließlich am spätesten im Hammelserum, doch sind auch im Hammelserum nach 10 Minuten nur noch etwa $^1/_5$ und nach 5 Stunden kaum noch etwa $^1/_{100}$ der eingesäten Sporen unverändert.

Innerhalb $^3/_4$—$1^1/_2$ Stunden ist bei 37° C die Sporenkeimung schon so weit vorgeschritten, daß man an den Keimlingen sowie an der Sporenhaut eine deutliche Zweiteilung beobachten kann. Die Ausbildung fertiger, mehrgliederiger Milzbrandstäbchen tritt aber in der Hauptmasse erst 3–5 Stunden nach der Einsaat der Sporen ein.

Eine Neubildung von Sporen aus Sporeneinsaat in Bouillon bei 37° C läßt sich schon nach 14—15 Stunden feststellen, so daß zur Ausbildung von Sporen aus Stäbchen bei 37° C mindestens eine Zeit von etwa 10 Stunden erforderlich ist. Die Sporenneubildung tritt ebenso wie die Keimung nicht nach und nach und vereinzelt auf, sondern fast plötzlich an der größten Mehrzahl der Stäbchen.

Im Serum vollzieht sich die Sporenbildung in der Regel langsamer, meist erst nach 24 Stunden oder noch später, nach 48—72 Stunden.

II. Der Leib des Milzbrandstäbchens ist von einer feinen, zarten Hülle umgeben, die im hängenden Tropfen deutlich erkennbar ist, in gefärbten Ausstrichen aber nicht sichtbar gemacht werden kann, weil sie bei der Züchtung auf den gewöhnlichen Nährböden in der Regel äußerst schmal bleibt und den Farbstoff nicht aufnimmt. Im tierischen Körper dagegen und bei der Züchtung im Serum erleidet die Hülle der Milzbrandstäbchen eine Quellung und stoffliche Umänderung, infolge deren sie für den Farbstoff zugänglich gemacht wird und daher auch in gefärbten Ausstrichen als eine mehr oder weniger breite Kapsel sichtbar gemacht werden kann.

Die Kapselbildung tritt in jedem Serum auf, im milzbrandfeindlichen wie im nicht feindlichen, im aktiven wie im inaktivierten, im frischen wie im alten, im reinen wie im verdünnten Serum. Sehr breite Kapseln bilden sich im Serum von Hammel, Ziege, Rind, Hund, Huhn und Taube, während im Serum von Kaninchen, Meerschweinchen, Schwein und Pferd sich meist nur schmale Kapseln entwickeln. An der Kapselbildung nehmen jedoch durchaus nicht sämtliche Milzbrandstäbchen teil, sondern es bleiben gleich von vornherein vereinzelte Stäbchen von der Aufquellung ihrer Hülle verschont.

Zwischen der Ausgiebigkeit und Schnelligkeit der Kapselbildung im Serum sowie im Körper der einzelnen Tierarten einerseits und zwischen der Empfänglichkeit der betreffenden Tierart andererseits ist irgendein Zusammenhang nicht nachweisbar.

Die Kapselbildung macht sich schon $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde nach dem Einbringen der Stäbchen in das Serum bemerkbar, und zwar zuerst an den Enden der einzelnen Stäbchenglieder, dann erst tritt sie an den Seitenrändern der Stäbchen auf. Infolge der stärkeren Quellung an den Enden der einzelnen Glieder treten die sogenannten Bambusformen in Erscheinung. Die an den Seitenrändern der Kapseln auftretenden Wellenlinien entstehen nicht durch eine beim Wachstum der Stäbchen verursachte Dehnung der Kapseln, sondern sie sind auf eine ungleichmäßige Quellung der Stäbchenhülle zurückzuführen.

Nach einiger Zeit (in der Regel 12—14 Stunden) ist an den Kapseln ein deutlicher Zerfall bezw. eine Rückbildung bemerkbar. Die Färbbarkeit der Kapsel nimmt ab, am Rande treten körnige Massen auf, es zeigen sich Zusammenhangstrennungen zwischen dem Stäbchenleib und der Kapsel, und es werden Schichtungen bemerkbar, oder die Kapsel wird im ganzen immer schmäler, sie färbt sich immer blasser, bis schließlich nur eine ganz schmale Hülle zurückbleibt, die sich färberisch nicht mehr darstellen läßt. Während des Zerfalls und der Rückbildung der Kapseln treten aber immer wieder neue Kapselstäbchen auf, doch nimmt die Anzahl der Kapselstäbchen mit der Zeit immer mehr und mehr ab.

Die Anzahl der kapsellosen Stäbchen wird dagegen immer größer, so daß man schließlich Serumkulturen erhalten kann, die nur kapsellose Milzbrandstäbchen oder neben diesen nur ganz vereinzelte Kapselstäbchen enthalten.

Die Zunahme der kapsellosen Stäbchen im Serum kann wohl nicht dem Umstande zugeschrieben werden, daß dem Serum ein bei der Kapselbildung zur Verwendung kommender Stoff entzogen wird, sondern es ist vielmehr anzunehmen, daß die Milzbrandstäbchen im Serum im Laufe der Zeit eine Widerstandsfähigkeit gegen die kapsel-aufquellende Wirkung des Serums erlangen. Diese Widerstandsfähigkeit fehlt aber einzelnen Stäbchen auch gleich von vorneherein nicht.

Die Milzbrandkapsel ist demnach als etwas Vorübergehendes, als ein abnormer, „krankhafter“ Zustand der Stäbchenhülle zu betrachten, von dem die Stäbchenleiber selbst wohl nur unwesentlich betroffen werden, und den die Stäbchen, meist mit Erfolg, zu überwinden bestrebt sind.

III. Irgendein Zusammenhang zwischen den kapselbildenden und milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Serums der einzelnen Tierarten ist nicht nachweisbar.

Kaninchenserum wirkt nicht nur auf kapsellose, sondern auch auf bekapselte Milzbrandstäbchen und auch auf Milzbrandsporen stark abtötend. Die milzbrandfeindliche Wirkung des Kaninchenserums tritt so schnell ein, daß die Hauptmasse der eingesäten kapsellosen und bekapselten Stäbchen schon innerhalb der ersten 10 Minuten vernichtet wird. Von den eingesäten Sporen wird innerhalb der ersten 10 Minuten nur etwa die Hälfte abgetötet, dann erst erfolgt die weitere Abtötung in verhältnismäßig kurzer Zeit. Die milzbrandfeindliche Kraft des Kaninchenserums wird mit der Zeit abgeschwächt, doch ist sie nach 8- und mehrtägiger Aufbewahrung noch stärker als bei ganz frischem Serum von anderen Tieren.

Die Widerstandsfähigkeit der Kapselstäbchen gegenüber dem Kaninchenserum ist durchaus nicht größer als die Widerstandsfähigkeit der nicht gekapselten Stäbchen.

Die in lebenden Tieren gebildeten Kapselstäbchen besitzen eine geringere Widerstandsfähigkeit als die aus Serum gewonnenen Kapselstäbchen. Die Kapselstäbchen werden auch im Serum desjenigen Kaninchens, in dessen Unterhaut sie sich gebildet haben, ebenso schnell, wenn nicht noch schneller, abgetötet als aus anderen lebenden Kaninchen oder deren Säften stammende Kapselstäbchen.

Milzbrandkeime, die die schädlichen Einflüsse eines stark milzbrandfeindlichen Serums überwunden haben, besitzen eine größere Widerstandsfähigkeit auch gegenüber dem stark milzbrandabtötenden Serum eines anderen Tieres.

Die milzbrandfeindliche Kraft des Serums eines mit Milzbrand unter die Haut geimpften Kaninchens ist in der ersten Zeit (15 Stunden) nach der Impfung erhöht.

Dem Kaninchenserum am nächsten steht das Pferdeserum, doch wirkt es nicht so kräftig und so schnell auf Milzbrandkeime wie Kaninchenserum. Dem Pferdeserum schließt sich das Meerschweinchenserum an. Auch im Serum anderer Tiere, wie Rind, Schwein, Hammel, Ziege, Huhn, Taube, Hund, findet eine Abtötung der Milzbrandkeime statt, doch ist die milzbrandfeindliche Wirkung dieser Sera bedeutend schwächer. Von einem gänzlichen Fehlen der milzbrandfeindlichen Eigenschaften kann bei keinem der genannten Sera die Rede sein.

Auch in Verdünnungen mit Kochsalz und mit dem Serum von anderen Tieren wirkt Kaninchenserum noch kräftig. Hundeserum scheint in Verdünnungen mit Kochsalz kräftiger zu wirken als reines Hundeserum.

IV. Unterhautflüssigkeit des Kaninchens (15-stündige Wattelymphe) besitzt im Glase ebenfalls starke milzbrandfeindliche Eigenschaften, wenn auch nicht in so hohem Grade wie das Blutserum des Kaninchens.

V. Von Zellen befreites Exsudat aus der Brusthöhle des Kaninchens ist ebenso wirksam wie das Blutserum des Kaninchens. Ganz bedeutend schwächere milzbrandfeindliche Wirkung zeigt dagegen eine Aufschwemmung von farblosen Blutzellen des Kaninchens.

Milzbrandsporen werden im Glase von farblosen Blutzellen gierig gefressen, im Gegensatz zu den Milzbrandstäbchen, die nur ganz ausnahmsweise und nur ganz vereinzelt von farblosen Blutzellen aufgenommen werden.

Während die Sporen auch im unveränderten lebensfähigen Zustande gefressen werden und nach der Aufnahme sich innerhalb der Zellen lebensfähig erhalten können, werden Milzbrandstäbchen wahrscheinlich erst im abgetöteten Zustande aufgenommen.

Berührungen, Umklammerungen und Verklumpungen zwischen farblosen Blutzellen und Milzbrandstäbchen kommen bei bekapselten Stäbchen ebensogut vor wie bei unbekapselten, doch treten diese Erscheinungen nur so vereinzelt auf, daß ihnen eine wesentliche Rolle bei der Abtötung der Milzbrandstäbchen nicht zugeschrieben werden kann.

VI. Im lebenden Kaninchen (Bauchhöhle, Unterhaut, Blutbahn) zeigen die Milzbrandkeime ein ähnliches Verhalten wie im Glase.

Die eingeführten Milzbrandsporen werden von den weißen Blutzellen und anderen Körperzellen mit großer Gier gefressen. Von den gefressenen Sporen geht ein Teil zugrunde, ein anderer Teil kann sich aber lange lebend erhalten und auch innerhalb der Zellen zu Stäbchen entwickeln.

Milzbrandstäbchen werden dagegen von den Zellen nur ganz ausnahmsweise und wahrscheinlich erst im abgestorbenen Zustande aufgenommen.

Ein Unterschied in dem Verhalten der bekapselten und der unbekapselten Milzbrandstäbchen im Körper des Kaninchens, insbesondere eine größere Widerstandsfähigkeit der bekapselten Stäbchen, ist nicht nachweisbar. Sowohl bekapselte als auch unbekapselte Stäbchen werden sofort nach der Einführung in den Körper massenhaft abgetötet. Bei der Einspritzung großer Mengen in die Blutbahn wird schon innerhalb weniger Minuten die Hauptmasse der eingespritzten kapsellosen ebenso wie der bekapselten Stäbchen (etwa 99 v. H. in $^1/_2$ Stunde) außerhalb der Körperzellen vernichtet.

Obwohl die Milzbrandsporen von den Körperzellen des Kaninchens mit großer Gier gefressen werden, die Milzbrandstäbchen (bekapselte wie unbekapselte) dagegen nicht, so ist es doch auf die Zeitdauer von der Impfung bis zum Tode des Kaninchens ohne Einfluß, ob Sporen oder bekapselte oder unbekapselte Stäbchen dem Kaninchen einverleibt werden.

Es kann demnach:

1) die Kapsel der Milzbrandstäbchen als ein Schutzmittel gegen die milzbrandfeindlichen Kräfte des Tierkörpers nicht angesehen werden;
2) die Freßtätigkeit der Körperzellen des Kaninchens im Kampfe gegen die Milzbrandkeime nicht von entscheidender Bedeutung sein.

Literaturverzeichnis.

1) **Ascoli**, Public. dell' Istit. sieroterap. Milan. Vol. 3. 1907. No. 9 u. 10.
2) — —, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. p. 178.
3) **Bail**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 27. 1900. p. 10.
4) — —, ibid. p. 517.

5) **Bail**, ibid. Bd. 33. 1903. p. 343 u. 610.
6) — —, Prag. med. Wochenschr. 1903. No. 25.
7) — —, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 613.
8) — —, ibid. Bd. 46. 1908. p. 488.
9) **Bail u. Pettersson**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 34. 1903. p. 167 u. 756.
10) — —, ibid. Bd. 35. 1904. p. 102.
11) **De Bary**, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze. 1887.
12) **Baumgarten**, Jahresber. 1886. p. 375.
13) **v. Behring**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.
14) — —, ibid. Bd. 7. 1889.
15) — —, Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 29. p. 893.
16) **Berndt**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 28. 1900. p. 648.
17) **Bitter**, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 3. 1888.
18) — —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 328.
19) **Bongert**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 34 u. 35. 1903. p. 497.
20) **Buchner**, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 5. 1889. No. 25. p. 817.
21) — —, ibid. Bd. 7. 1900.
22) **Canestrini, Flügge**, Die Mikroorganismen. Bd. 2. p. 233. Leipzig 1896.
23) **Charrin und Rogge**, Soc. de Biol. de Paris. 1889.
24) **Christmas**, Annal. de l'Inst. Pasteur. Bd. 15. 1891. p. 487.
25) **Conradi**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 34. 1900. p. 185.
26) **Czaplewski**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 12. 1892.
27) **Danysz**, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1889. p. 641.
28) **Deutsch und Feistmantel**, Impfst. u. Sera. 1903.
29) **v. Dungern**, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 20.
30) **Dircknick-Holmfeld**, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1890.
31) **Ehrlich und Sachs**, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 14.
32) **Fadyean**, J. M., Journ. of comp. Pathol. and Therap. Vol. 16. T. I.
33) **Fischer**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900. p. 37.
34) **Fischoeder**, Fortschr. d. Vet.-Hyg. 1903. Heft 1—3.
35) **Flügge**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 229.
36) — —, ibid. Bd. 34. 1900. p. 185.
37) — —, Die Mikroorganismen. p. 606. Leipzig 1886.
38) **v. Fodor**, Arch. f. Hyg. Bd. 4. 1886. p. 129.
39) — —, Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 34.
40) — —, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 7. 1890. p. 24.
41) **Frank und Lubarsch**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7.
42) **Gamaleia**, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1888.
43) **Gebauer**, Zeitschr. f. Tiermed. 1897. p. 46.
44) **Geppert**, Berl. klin. Wochenschr. 1889. p. 369.
45) **Grethe**, Fortschr. d. Med. 1897. p. 43.
46) **Gruber und Futaki**, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 6.
47) — —, ibid. 1907. No. 39.
48) **Haase**, Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 20. 1894. p. 429.
49) **Hankin**, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 9. 1891. No. 10.
50) **Heim**, Arch. f. Hyg. Bd. 40. 1901.
51) — —, Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 10. p. 426.
52) **Hinterberger**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 30. 1901.
53) **Johne**, Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 19. 1893. p. 244 u. 813.
54) — —, ibid. Bd. 20. 1894. p. 426.
55) — —, Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1894. No. 35.
56) **Jacobsthal und Pfersdorff**, Zeitschr. f. Infektionskrankh. u. Hyg. d. Haustiere. Bd. 1. 1906. p. 102.
57) **Kern**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 22. 1897. p. 166.
58) **Koch**, R., Mitteil. a. d. Reichsges.-Amt. Bd. 1. p. 40.
59) **Klett**, Deutsche Tierärztl. Wochenschr. 1894. p. 321.
60) **Liakhovetzky**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 19. 1896.
61) **v. Lingelsheim**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42. 1902. p. 308.
62) **Löhlein**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. 38. Beiheft. p. 32.
63) **Lubarsch**, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1888.
64) **Lüpke**, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1900. p. 495.
65) **Metschnikoff**, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1887 u. 1890.
66) **Nakanishi**, Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 187.
67) **Nissen**, Zeitschr. f. Hyg. 1889. Juli.
68) **Nötzel**, Fortschr. d. Med. 1896. p. 44.
69) **Nuttall**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 353.

70) **Olt**, Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1899. No. 1.
71) **Ostertag**, Zeitschr. f. Fleisch- u. Milch-Hyg. 1900. p. 225.
72) **Pane**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 12. 1892.
73) **Petruschky**, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 4. 1888.
74) **Pekelharing**, La Semaine méd. 1892. p. 503.
75) **Pettersson**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 30. 1903. p. 613.
76) — —, ibid. Bd. Bd. 45. 1908.
77) **Pianese**, Giorn. dell' Ass. Nap. dei med. e nat. Vol. 5. 1892. p. 95.
78) **Podwyssotzky**, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1898.
79) **Prazmowsky**, Biol. Centralbl. Bd. 8. 1888. p. 31.
80) **Preusse**, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1901. p. 526.
81) **Preisz**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1904. p. 280.
82) — —, ibid. Bd. 44. 1907. p. 209.
83) — —, Pester med. chir. Presse. 1907.
84) — —, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. p. 341.
85) **Räbiger**, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1900. p. 606.
86) **Radziewsky**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 28. 1900. p. 161.
87) — —, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 37. 1901. p. 1.
88) **Rozatzin**, **Baumgartens** Jahresber. Bd. 15. 1899. p. 766.
89) **Sanfelice**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 33. 1903.
90) **Sawtschenko**, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1897. p. 873.
91) **Schreiber**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 20. 1896.
91a) **Schmidt**, Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1897. No. 4.
92) **Schulz**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 28. 1901. No. 15.
93) **Serafini**, Estratto del Regr. med. Napoli. 1888.
94) **Székely** und **Szana**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 12. 1892. p. 61 u. 139.
94a) **Tchernogoreff**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 18. p. 714.
95) **Turrò**, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 27. 1900.
96) **Weil**, Arch. f. Hyg. Bd. 36. 1901. p. 205.
97) **Werigo**, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1892. p. 472.
98) — —, ibid. 1894. p. 1.
99) **Wilde**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 37. 1901. p. 476.
100) — —, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 20.
101) **Wyssokowicz**, Zeitschr. f. Hyg. Bd. I. 1886. p. 3.

Nachdruck verboten.

Ueber die Abtötung der Tuberkelbacillen durch Erhitzung.

Von Prof. Dr. **Forster**, Straßburg.

Im Verein mit meinen Schülern und Mitarbeitern **van Geuns**, **de Man**, **Admiraal**, **Meyerhof**, **Lachner-Sandoval**, **Marx**, **Levy** und **Bruns**, **Weil**, **E. Meyer**, **A. Schmidt** u. a. habe ich vom Jahre 1887 an eine Reihe von Untersuchungen ausgeführt, um zu bestimmen, bei welchen Temperaturhöhen die verschiedenen, in Kulturen oder in Organen und Körperflüssigkeiten erkrankter Tiere und Menschen gewachsenen infektiösen Mikroorganismen zugrunde gehen, wenn die Erwärmung eine bestimmte kurze Zeit lang einwirkt. Im allgemeinen konnte festgestellt werden, daß die Vegetationsformen der Krankheitserreger einer Temperatur von 60—65° nur wenige Minuten zu widerstehen vermögen. Choleravibrionen, Typhus-, Paratyphus-, Ruhr- und **Coli**-Bacillen, **Proteus**- und Pestbakterien, Diphtheriebacillen, das Virus der Impflymphe und Protozoen ertragen 65° kaum ein paar Minuten lang, die Vegetationen der Milzbrandbacillen ohne Sporen, ferner Rotzbacillen, die Eiterkokken, **Friedländer**-Bacillen sterben dabei nach einer Einwirkungsdauer von etwa 5 Minuten, und in der gleichen Zeit wird so das Virus der Maul- und Klauenseuche vernichtet. Etwas widerstandsfähiger erweisen sich die Aktinomyceten, die erst nach 5 bis

10 Minuten langer Erhitzung auf 65° zugrunde gehen. Von allen bekannten infektiösen Mikroorganismen sind die Tuberkelbacillen am zähesten; will man sie töten, so muß man eine Temperatur von 65° mindestens 15 Minuten lang einwirken lassen. In großer Regelmäßigkeit werden dabei die Krankheitskeime mit steigender Temperatur in abnehmender Zeit vernichtet; die Tuberkelbacillen beispielsweise gehen nach unseren Beobachtungen zugrunde bei:

55° in 4 Stunden,
60° „ 1 Stunde,
65° „ 15 Minuten,
70° „ 10 „
80° „ 5 „
90° „ 2 „
95° „ 1 Minute,
100° sofort nach Erreichung der Siedehitze.

Trägt man die Abtötungstemperaturen als Ordinaten auf die durch die Zeiten geteilte Abszissenachse auf, so erhält man eine regelmäßige Kurve, die von 100° bis zu einem bei 60° und 60 Minuten gelegenen Knickpunkt steil abfällt und von da an flach zur Grenze der Vegetationstemperatur verläuft.

Während der Versuche, die im hygienischen Laboratorium der Universität Amsterdam von van Geuns (1), von mir (2) und de Man (3) angestellt wurden, sind die verschiedenen, bei ähnlichen Arbeiten gemachten Beobachtungsfehler aufgedeckt worden. Damit konnte die Erklärung gegeben werden, warum die früheren Angaben über Abtötungstemperaturen für niedere Organismen der Zuverlässigkeit entbehrten, und es wurde der Weg gewiesen, wie Fehler zu vermeiden und wie bei den Versuchen zu verfahren sei.

Die in meinem Institute gemachten Erfahrungen, die durch die Vorträge in den öffentlichen Sitzungen der Akademie der Wissenschaften (4) weiteren Kreisen zugänglich geworden waren, wurden für die Zwecke der praktischen Hygiene nutzbar gemacht; denn es erschien nun möglich, einen der Wege der Verbreitung von Infektionskrankheiten, speziell der Cholera, die damals in erschreckender Weise in Hamburg aufgetreten war und auch Amsterdam erreicht hatte, nämlich den durch die Milch, zu verlegen. So wurde Milch, die in Flaschen gefüllt auf 65° erwärmt und auf dieser Temperatur 25 Minuten lang gehalten worden und in der geschlossenen Flasche vor einer späteren Verunreinigung geschützt war, ein rasch sich einbürgernder Konsumartikel, der der gekochten Milch mit ihrem vielfach unangenehmen Geschmacke vorgezogen wurde. Da in der so behandelten Milch nach der Abtötung der widerstandsfähigen Tuberkelbacillen andere weniger zähe infektiöse Keime lebend nicht enthalten sein konnten — wofür die nach anderen Verfahren pasteurisierte Milch keine Gewähr bot —, so bezeichnete ich sie, um sie von letzterer zu unterscheiden, als „krankheitskeimfreie Milch“.

Unter solchen Umständen muß natürlich über die Abtötungstemperatur bei bestimmter Einwirkungsdauer volle Sicherheit bestehen. Dies gilt im besonderen für die Vernichtung der Tuberkelbacillen bei 65° — der Temperatur, bei deren Einwirkung Geschmack und andere Eigenschaften der Kuhmilch nicht wesentlich leiden —, da der Tod der Tuberkelbacillen maßgebend für die gewählte Bezeichnung war. Da wir die Fehlerquellen, die bei den Versuchen über den Einfluß hoher Temperaturen auf das Leben von Bakterien bestehen, und die früher nicht genügend berücksichtigt worden waren, bei unseren Untersuchungen sorgfältig vermieden hatten, so war kein Grund zum Zweifel vorhanden. Die unter gleicher Beachtung und Vermeidung von Versuchsfehlern ausgeführten Untersuchungen von Bonhoff (5), von Levy und Bruns (6) und von Hippius (7) lieferten denn auch dieselben Ergebnisse wie die Versuche de Mans. Als Bang (8), der in früheren Versuchen eine relativ große, aber wechselnde Widerstandsfähigkeit des Tuberkelvirus gegen hohe Temperaturen gefunden zu haben glaubte, die in meinem Institute geübten, von van Geuns und de Man angegebenen Untersuchungsmethoden und Vorsichtsmaßregeln anwandte, konnte auch er feststellen, daß die Tuberkelbacillen bei 65° in kurzer Zeit Entwickelungsfähigkeit und Leben verlieren. Die Festigkeit unseres Standpunktes konnte begreiflicherweise durch die Mitteilungen Becks (9) nicht erschüttert werden. Beck meinte aus seinen Versuchen, in denen er die Wirkung des Erwärmens auf 70° und des üblichen Kochens der Milch auf hineingebrachte Tuberkelbacillen kennen lernen wollte, schließen zu können, daß diese Mikroorganismen eine Temperatur von 70° länger als 15 Minuten aushalten und bei 100° erst nach etwa 3 Minuten zugrunde gehen. Allein die von Beck angestellten Versuche gestatten solchen Schluß nicht. Denn da die Erhitzung im offenen Topfe vorgenommen wurde, so waren nicht alle der Prüfung unterzogenen Bakterien in der Milch, die nachher zum Zwecke des Nachweises der Tuberkelbacillen Versuchstieren injiziert wurden, gleich hoch oder gleich lang erhitzt worden. Bei der Erwärmung von Milch in offenen Gefäßen kommt es einerseits zur Bildung von Bläschen und der bekannten Milchhaut, deren Temperatur infolge der Abkühlung durch die vorbeistreichende Luft niedriger ist als die der Flüssigkeit, was auch Bang (10) seinerzeit erfahren hatte. Andererseits werden die Milchteile, die den über die Flüssigkeitsoberfläche hinausragenden Rand des Kochtopfes bespülten, weniger und ungleichmäßiger erhitzt als die flüssige Milch selbst. Das geht unter anderem deutlich daraus hervor, daß die Tuberkelbacillen, die nach meinen und de Mans Versuchen sofort zugrunde gehen, wenn sie die Temperatur der Siedehitze des Wassers erreicht haben, von Beck erst tot gefunden wurden, wenn nach dem Beginne des Aufwallens der Milch ein paar Minuten verstrichen sind. Das ist die Zeit, die vergeht, bis der aus der ins Wallen geratenden Milch entwickelte Dampf die Luft im Topfe verdrängt und Schaum und Milchhaut und die überstehende Topfwand mit der anhaftenden Milch und damit alle Tuberkelbacillen auf die Dampfhitze erwärmt worden sind. Beck hatte seine Versuche zu praktischen Zwecken angestellt, insbesondere in der Absicht, zu zeigen, daß das kurze Aufwallen der Milch beim Erhitzen in der Küche nicht sicher zur Vernichtung des in ihr etwa enthaltenen Tuberkelvirus führe, und wollten zur Vorsicht mahnen. Der Zweck für die Praxis war erreicht; nur war dabei — ebenso wie bei den Versuchen Morgenroths (11) — der Irrtum unterlaufen, daß das beobachtete Ausbleiben der Wirkung der Erhitzung einer bestimmten Temperaturhöhe in Graden zugeschrieben wurde, die doch ein Teil der Milch und der Tuberkelbacillen darin nicht erreicht hatte.

Es ist begreiflich, daß diese Untersuchungen keinen besonderen Einfluß auf die Praxis der Pasteurisierung oder der Bereitung der „krankheitskeimfreien Milch“ ausübten. Das aber bezwecken die Untersuchungen, die kürzlich von de Jong (12) und von Basenau (13) und seinem Schüler van der Sluis (14) veröffentlicht wurden. Durch diese ist dem Anscheine nach in die Kreise der Molkereitechniker eine gewisse Beunruhigung hineingetragen worden, die zweifellos begründet wäre, wenn die mitgeteilten Versuche richtig wären; denn letztere liefern Ergebnisse, die von den Resultaten der vielen, unter meiner Leitung mit möglichster Umsicht angestellten Untersuchungen weit abweichen. Die genannten Autoren glauben festgestellt zu haben, daß die Tuberkelbacillen eine $^1/_2$- bis 1-stündige Erwärmung auf 65° und 70°, ja selbst eine $^1/_2$-stündige Erhitzung auf 85° ertragen und mit Sicherheit erst vernichtet werden, wenn sie 1 Stunde lang auf einer Temperatur von 80° gehalten werden. Den Unterschied zwischen meinen und ihren Befunden meinen die Verfasser, der eine mehr versteckt, der andere offen, Uebersehen in der Ausführung meiner Versuche zuschreiben zu müssen. **De Jong** scheint solche Fehler darin zu sehen, daß bei den in meinem Institute angestellten Versuchen weniger widerstandsfähige Tuberkelbacillen verwendet worden wären als in seinen; wenigstens legt er besonderen Nachdruck auf den Umstand, daß das von ihm behandelte tuberkulöse Material außer dem Menschen verschiedenen an Tuberkulose erkrankten Haustieren entnommen war und mit Milch gemischt erwärmt wurde. Allein auch **de Man** und ich hatten tuberkulöse Produkte von Menschen und Haustieren in ihrem natürlichen Zustande und in Milch der Erwärmung ausgesetzt, und ebenso waren **Levy** und **Bruns** verfahren. **Basenau** (15) meint, daß die Ergebnisse meiner Laboratoriumsversuche, die nicht auf praktische Verhältnisse übertragen werden dürften, deshalb unrichtig wären, weil zu wenig Tuberkelbacillen durch **de Man** den Versuchstieren injiziert worden wären. **Basenau** irrt sich aber. Wie **de Man** (16) in einer Erwiderung auf eine Mitteilung **Fokkers** und in seiner schon zitierten Abhandlung ausdrücklich bemerkt, wurde von ihm so viel von tuberkulöser Masse nach der Erwärmung auf 65° usw. injiziert, daß die von **Fokker** (17) beschriebene Bildung von käsigen Knötchen, in denen wohl tote, aber keine lebenden Tuberkelbacillen enthalten sind, bei den Versuchstieren beobachtet werden konnte. Solche Bildungen treten aber nur auf, wenn große Mengen toter Tuberkelbacillen injiziert werden. Alle solche Bedingungen, von denen angenommen werden konnte, daß sie die Versuchsresultate zu beeinflussen imstande wären, sind von mir wohl berücksichtigt worden. Der Grund für die Widersprüche in den Versuchsergebnissen muß daher anderswo gesucht werden als in der vermeintlichen Ungleichheit der Widerstandsfähigkeit oder in der Verwendung von zu wenig Tuberkelkeimen, für die bekanntlich Meerschweinchen, unsere Versuchstiere, sehr empfindlich sind.

Der Grund ist denn auch zu finden. Bei Untersuchungen, mit denen der Einfluß einer bestimmten Temperaturhöhe in einer gegebenen Zeit auf eine Substanz festgestellt werden soll, ist dafür zu sorgen, daß die Substanz wirklich der gewählten Temperatur ausgesetzt wird. Soll im besonderen die Abtötungstemperatur für vermehrungsfähige Zellen, die in Flüssigkeiten aufgeschwemmt sind, bestimmt werden, so müssen selbstverständlich alle Teile der Flüssigkeit, auch die kleinsten, die noch die Zellen enthalten, die gleiche Temperaturhöhe erreichen, und diese muß die gleiche Zeitlang einwirken. Daß gerade in dieser Beziehung bei früheren Versuchen nicht mit der nötigen Sorgfalt verfahren worden ist, habe ich bereits erwähnt, ebenso daß von uns die Fehler beleuchtet wurden, die bei solchen Erwärmungs- und Abtötungsversuchen gemacht wurden oder vorkommen können. Man sollte nun denken, daß bei Untersuchungen, mit denen ein schwerer Angriff auf die Zuverlässigkeit der wissenschaftlichen Arbeit eines anderen unternommen wird — zudem noch in einer Sache, die die öffentliche Gesundheit und sanitäre Bestrebungen im Gewerbebetriebe angeht — die Versuche so angeordnet würden, daß bekannte Irrtümer vermieden werden. Das ist indessen weder bei de Jong noch bei Basenau und van der Sluis der Fall. Während von ihnen Genaues über die Abkunft und Menge der verwendeten Krankheitskeime mitgeteilt werden, bleibt die Hauptsache bei solchen Untersuchungen, die Methode der Erwärmung, in ihren wichtigen und schwierigen Einzelheiten unerörtert. Sie wird offenbar von den drei Autoren als Nebensache betrachtet. De Jong erwähnt eben, daß die Erwärmung der in Flaschen gefüllten Milch in einem Ostwaldschen, bekanntlich offenen Thermostaten mit Toluolregulator vorgenommen wurde; Basenau und van der Sluis beschränken sich darauf, zu sagen, daß sie sich bei der Erwärmung dem Verfahren bei der Bereitung der „krankheitskeimfreien“ Milch in einer Milchanstalt angeschlossen hätten. In den Versuchsreihen wäre auf die richtige Anwärmung des Flascheninhalts und besonders darauf geachtet worden, daß beim Einfüllen der die Tuberkelbacillen enthaltenden Milch in die Flaschen sich keine Milchtröpfchen an den Wänden über der Milch absetzten. Es fehlt aber der für die Beurteilung wichtigste Nachweis, daß bei der Versuchsanordnung die Bedingungen erfüllt wurden, unter denen tatsächlich sämtliche Tuberkelbacillen in der Milch, die nach ihrer Erhitzung Versuchstieren injiziert wurden, auf die angegebene Höhe der Temperatur gebracht oder darauf die angegebene Zeitlang gehalten worden sind. Im Gegenteil, gerade aus den kurzen Bemerkungen über die Weise der Erwärmung geht deutlich hervor, daß weder de Jong noch Basenau und sein Schüler die physikalischen Bedingungen bei ihren Erhitzungsversuchen genügend überschauten oder sich der mannigfachen Klippen dabei bewußt waren.

Den Angaben nach wurden die mit der infizierten Milch beschickten Flaschen im heißen Wasser erwärmt; die Temperatur wurde an einem in Milch eingetauchten Thermometer abgelesen. Ich zweifle nicht im mindesten, daß dabei die Milch — wahrscheinlich auch an ihrer Oberfläche — immer auf die beobachtete Temperatur erhitzt worden ist. Allein es kommt mehr in Betracht. Eine Reihe physikalischer oder mechanischer Faktoren, die von einem nicht genügend Geschulten leicht übersehen werden, üben hier einen Einfluß aus, der dahin führt, daß die mit der Flaschenmilch gemischten Massen von Tuberkelbacillen eine ungleiche Erwärmung, trotz gleichmäßiger Thermometerangabe, erfahren. Es genügt, nur auf einen, allerdings wesentlichen, davon einzugehen. Bei der gewählten Versuchsanordnung ragt der Flaschenhals über das heiße Wasser heraus, in dem die Erhitzung vorgenommen wird. Mit der fortschreitenden Erwärmung der Milch sättigt sich der Luftraum in der Flasche mit Wasserdampf. Da die Flaschen auf Temperaturen unter der Siedehitze erwärmt werden, so besteht zwischen der Temperatur der Milch im Flaschenbauche und der des in die kühlere Luft ragenden Flaschenhalses ein Unterschied, der mit der Höhe über der Flüssigkeitsoberfläche ansteigt, am Flaschenverschluß am größten ist und um so mehr beträgt, je niedriger die Temperatur unter 100° ist, auf die erwärmt wird. In meinen Vorlesungen und Kursen habe ich seit Jahrzehnten dies Verhalten behandelt, das also meinem früheren Assistenten Basenau hätte bekannt sein können. Ich habe übrigens meinen gegenwärtigen Assistenten, Herrn Dr. Kaoru Aoki, beauftragt, meine früheren Beobachtungen hierüber zusammenzustellen und zu erweitern. Dr. Aoki wird an anderer Stelle über die Versuche berichten; nur einige davon möchte ich hier zur Verdeutlichung durch Zahlen anführen. Erwärmt man z. B. eine in eine Flasche eingeschlossene Flüssigkeit in einem offenen Papinschen Topf oder im Ostwaldschen Thermostaten mit heißem Wasser, so gestalten sich die Temperaturverhältnisse nach erfolgter Anwärmung auf 65—66°, auf 70, 80 und 85° unter sonst gleichen Umständen folgendermaßen:

	Tageszeit	Wasser im Papinschen Topfe	In der Flasche: Wasser	Luft
I.	$10^h\ 25'$	67,0°	65,0°	52,0°
	$10^h\ 35'$	67,0°	65,8°	52,6°
	$10^h\ 45'$	67,0°	66,0°	53,0°
	$10^h\ 55'$	67,0°	66,0°	53,0°
	$11^h\ 5'$	67,0°	66,0°	53,0°
	$11^h\ 15'$	67,0°	66,0°	53,0°
	$11^h\ 25'$	67,0°	66,0°	52,8°
II.	$10^h\ 30'$	71—72°	70,0°	57,0°
	$10^h\ 40'$	71—72°	70,4°	57,6°
	$10^h\ 50'$	71—72,5°	70,6°	57,8°
	11^h	71—72,5°	70,6°	58,0°
	$11^h\ 10'$	71,0°	70,6°	57,1°
	$11^h\ 20'$	72,5°	70,6°	57,5°
	$11^h\ 30'$	71,0°	70,4°	57,0°
III.	11^h	81—83°	80,0°	70 0°
	$11^h\ 10'$	81—83°	80,2°	70,0°
	$11^h\ 20'$	82°	80,2°	69,9°
	$11^h\ 30'$	81—82°	80,0°	69,2°
	$11^h\ 40'$	82—83°	80,2°	69,8°
	$11^h\ 50'$	81°	80,0°	68.5°
	12^h	82°	80,1°	68,5°
IV.	$5^h\ 10'$	88,5°	85,0°	77,5°
	$5^h\ 20'$	88,5°	85,0°	77,5°
	$5^h\ 30'$	88,5°	85,0°	77,5°
	$5^h\ 40'$	88,5°	85,0°	77,5°

Bei dieser Reihe von Versuchen befand sich ein Thermometer in der Luft des Flaschenhalses etwa in der Mitte zwischen der Oberfläche des erhitzten Wassers und dem unteren Rande des den Thermometer tragenden Stopfens. Eben unterhalb des gut schließenden Stopfens ist die Temperatur der Flaschenluft und damit der Glaswand dort natürlich noch niedriger, und zwar in den gleichen Versuchen:

bei 65° im Wasser 43,2°
„ 70° „ „ 48,6°
„ 80° „ „ 62,0°
„ 85° „ „ 68,5°

Der Temperaturunterschied zwischen Wasser und Luft in solchen erwärmten Flaschen ist begreiflicherweise von mehreren Umständen abhängig, wechselt aber in verschiedenen Versuchsreihen nicht erheblich. In den obigen Versuchen betragen die Unterschiede bei einer Erwärmung des Wassers in der Flasche:

	Mitte zwischen Wasser und oberem Flaschenrande	Eben unter dem Stopfen
auf 65°	13,0°	21,8°
„ 70°	12,8°	21,4°
„ 80°	10,3°	18,0°
„ 85°	7,5°	16,5°

Da die Luft in der Flasche bei der Erhitzung sich mit Wasserdampf sättigt, so kondensiert sich an den Wänden der Flasche und am

Stopfen Wasser in feinen Tröpfchen, die bald zusammenfließen und nach abwärts sinken. Dadurch wird den Fetttröpfchen der Milch ein Weg nach aufwärts eröffnet, längs dem sie bis an den Stopfen aufsteigen. Mit den Fetttröpfchen steigen aber auch die in die Milch gebrachten, ihnen anhaftenden Tuberkelbacillen empor. Dies geschieht um so reichlicher, als sich bei der ruhig gehaltenen Milch Rahm bildet. In diesem häufen sich bekanntlich nach Scheurlen (18) und nach den in meinem Laboratorium von Goethardt (19) ausgeführten Untersuchungen Bakterien an. Es kommen also die mit der Milch gemischten Tuberkelbacillen in der Flasche, und zwar um so mehr, je mehr Tuberkelbacillen in die Milch gebracht wurden, nach oben an die Wände und an die untere Fläche des Stopfens. Wird nach beendeter Erwärmung die Milch zur Impfung verwendet, so ist nicht zu vermeiden, daß mit ihr die am Flaschenhals und Stopfenrande befindlichen Tröpfchen samt den in ihnen enthaltenen Keimen gemischt werden, und das Gemisch den Versuchstieren injiziert wird.

Nun ist deutlich, daß die im Flaschenhalse emporgestiegenen Tuberkelbacillen durchaus nicht die Temperatur erreichen, die der Thermometer in der Milch angibt. Wenn die Milch in der Flasche auch noch so lang auf 65 und 70° gehalten wird, die Temperatur im Flaschenhalse bleibt weit unter 65°, der Gradzahl, bei deren $^1/_4$-stündiger Einwirkung die Tuberkelbacillen nach unseren Versuchen getötet werden. Selbst wenn die Flaschenmilch auf 80° eine Stunde lang oder eine halbe Stunde lang auf 85° erwärmt wird, können die obersten Teile der Flaschen noch unter 65° und die dort befindlichen Tuberkelbacillen am Leben bleiben.

Es kann sonach kein Zweifel sein, daß der Grund für die Ergebnisse der Versuche von de Jong, Basenau und van der Sluis die Folge einer ungenügenden Versuchsanordnung ist. Damit wird auch die auffallende Erscheinung erklärlich, daß die Resultate so wechselnd und unregelmäßig sind, eine Erscheinung, die schon zur Vorsicht hätte mahnen sollen. Nach den mitgeteilten Tabellen ertragen die Tuberkelbacillen einmal 65 und 85°, ein anderes Mal gehen sie dabei zugrunde. Wenn die Tuberkelbacillen in verschiedenen Versuchen gleichen Temperaturen ausgesetzt werden, so sieht man dieselbe Regellosigkeit in der Wirkung. De Jong (20) fand bei den Versuchen mit einer $^1/_2$ Stunde dauernden Erhitzung von Kulturen auf 71—72° die geimpften Tuberkelbacillen:

	getötet	am Leben
bei Impfung in die Bauchhöhle	13mal	10mal
„ „ unter die Haut	12 „	11 „

Bei den Impfungen von Basenau und van der Sluis (21) waren die Tuberkelbacillen nach der Erwärmung:

	getötet	am Leben
auf 65°, 30 Minuten lang	1mal	2mal
„ 70°, 30 „ „	6 „	8 „
„ 70°, 60 „ „	1 „	2 „
„ 75°, 60 „ „	1 „	1 „
„ 80°, 30 „ „	—	2 „
„ 80°, 60 „ „	3mal	—

Außerdem wurden bei ein und demselben Erhitzungsversuche die geimpften Tiere bei der Sektion gefunden:

nach Erhitzung der Tuberkelbacillen	tuberkulös	gesund
auf 70°, 30 Minuten lang	1mal	1mal
„ 70°, 60 „ „	2 „	1 „

nach Erhitzung der Tuberkelbacillen	tuberkulös	gesund
auf 70°, 60 Minuten lang	1mal	4mal
„ 75°, 30 „ „	1 „	2 „
„ 75°, 30 „ „	3 „	3 „
„ 75°, 60 „ „	2 „	4 „
„ 80°, 30 „ „	2 „	4 „
„ 80°, 30 „ „	2 „	2 „
„ 85°, 30 „ „	2 „	2 „

Das alles ist als Folge von Fehlern der Erhitzungsmethode leicht begreiflich. Nach den in der letzten Tabelle angegebenen Zahlen ist es klar, daß ungleiche Mischproben der Flasche entnommen und den Tieren eingeimpft wurden. Die unregelmäßigen Zahlen dieser und der anderen Tabellen bestätigen weiterhin die Richtigkeit der Annahme, daß ein Teil der Tuberkelbacillen, die nach der Erwärmung der Milch den Versuchstieren injiziert wurden, nicht die Temperatur erreicht hatten, deren Wirkung die Autoren kennen lernen wollten oder die sie erreicht zu haben glaubten.

Man könnte vielleicht einwenden, daß die Menge der mit den Fetttröpfchen im Flaschenhals aufsteigenden Tuberkelbacillen zu klein wäre, um nach der Mischung mit der Flaschenmilch und nach der Injektion der Mischmilch Versuchstiere tuberkulös zu machen. Der Einwand ist hinfällig, denn in den Versuchen über die vermeintliche Abtötung der Tuberkelbacillen wurde, wie besonders betont wird, vollvirulentes Material gebraucht. Von virulenten Kulturen genügen aber nach den von E. Levy und H. Bruns (22) und von E. Levy (23) in meinem Institute ausgeführten Untersuchungen geringste Mengen, $^1/_{400000}$ bis $^1/_{600000}$ eines Milligramms, zur Erzeugung von ausgesprochener Tuberkulose der damit behandelten Meerschweinchen. Nur wenn der Milch sehr wenig Tuberkelbacillen zugesetzt werden, kann es sein, daß keine oder nur so wenig davon in die Höhe steigen, daß ein positiver Erfolg der Impfung nicht mehr einzutreten braucht. So wird der Befund Basenaus erklärlich, wonach bei der Beimischung von viel Bakterien zu der Milch nach deren Erhitzung keine, bei der von wenig aber wohl Abtötung eintritt.

Vermeidet man die Fehler, erwärmt man die mit den Krankheitskeimen beschickten Gefäße, wenn sie in dem heißen Wasser ganz untergetaucht sind, wie wir das seit den Versuchen von van Geuns verlangen, so erhält man die gleichen Resultate, die de Man und ich bei der Erhitzung von Tuberkelbacillen bekommen haben. Auch E. Levy und H. Bruns fanden eine Abtötung der in Flaschenmilch aufgeschwemmten Tuberkelbacillen nach $^1/_2$-stündiger Erwärmung auf 65°, als sie diese in einem von mir zur Pasteurisierung eingerichteten Thermostaten nach d'Arsonval vornahmen. In dem d'Arsonvalschen Thermostaten wird die Temperatur der Luft über dem heißen Wasser dadurch auf die des letzteren gebracht, daß der Deckel des Apparates doppelte Wände besitzt und der Hohlraum dazwischen mit heißem Wasser von gleicher Temperatur wie des Thermostaten gefüllt wird. Bei den in das heiße Wasser eingestellten Milchflaschen wurde also Hals und Stopfen ebenso hoch erhitzt wie der Inhalt. Man muß aber selbst bei diesem Apparate vorsichtig sein. Wenn die Temperatur des Wassers im Deckel unter die des Thermostaten sinkt, so tritt auch alsbald eine Erniedrigung der Lufttemperatur im Thermostaten ein. Hält man das Wasser im hohlen Deckel nicht durch eine besondere Flamme, sondern durch Leitung vom Körper des Thermostaten aus warm, so findet man, wenn konstante Temperaturen erreicht sind, z. B.:

in dem Wasser der Wandung des Thermostaten	66,0°
im Hohlraum des Deckels	58,7°
im Inneren des Thermostaten: Wasser	65,8°
„ „ „ „ : Luft	64,6°

Der Wichtigkeit der Sache halber habe ich übrigens, das Opfer von Versuchstieren nicht scheuend, noch einmal eine experimentelle Prüfung der Versuche vornehmen lassen. Mein Assistent Dr. Aoki führt die Versuche, bei denen Tuberkelbacillen verschiedener Herkunft in Milch erhitzt werden, aus, und wird nach deren Vollendung darüber berichten. Wie in unseren früheren Untersuchungen, wurde in den bis jetzt angestellten Versuchen eine Tötung der Tuberkelbacillen durch die 15 Minuten dauernde Erhitzung auf 65° erzielt, wenn dafür gesorgt wurde, daß die Keime sämtlich gleichmäßig auf diese Temperatur gebracht und auf ihr erhalten wurden.

Auf Grund ihrer Versuche rügen de Jong, Basenau und seine Schüler die von mir eingeführte Bereitung der „krankheitskeimfreien Milch“ und warnen davor. Die Warnung trifft die Milchanstalt, nach deren Verfahren sie ihre Versuche eingerichtet haben; mit Recht, denn es ist dann die dort geübte Methode der Erwärmung ebenso falsch als die, die bei den Versuchen gebraucht wurde; das ist aber nicht meine Methode. Die von mir gegebene Vorschrift zur Bereitung der „krankheitskeimfreien Milch“ lautet bestimmt dahin, daß die mit Milch beschickten Flaschen in einem Wasserbaderhitzungsapparate auf eine Temperatur von 65—67° gebracht, dann, ganz unter Wasser getaucht, 25 Minuten lang auf dieser Temperatur gehalten und nachher stark gekühlt werden. Bei solcher Behandlung wird der gesamte Flascheninhalt gleichmäßig auf die Abtötungstemperatur für die Tuberkelbacillen und die anderen Krankheitskeime erwärmt. Andere, z. B. C. J. Koning (24) oder H. Beer (25) haben den Grund für diese Vorschrift wohl begriffen und somit den Fehler der erwähnten Milchanstalt vermieden. Letzteren hat Basenau aufgedeckt; das war gut, wenn es auch ohne die Opferung von Versuchstieren hätte gemacht werden können. Nicht gut und nicht richtig aber ist, wenn de Jong, Basenau und van der Sluis meinen, daß sie eine von den früheren Beobachtungen abweichende Abtötungstemperatur für Tuberkelbacillen festgestellt hätten. Mit ihren Versuchen zu rechnen, wird dann Sache sein, wenn sie mit gründlichem physikalischen Wissen an Untersuchungen über die Abtötung von Bakterien durch hohe Temperaturen gegangen sind.

Literatur.

1) **Van Geuns**, Arch. f. Hyg. Bd. 9. 1889. p. 369. — Nederlandsch Tijdschr. v. Geneesk. Bd. 2. 1889. No. 20.
2) Hyg. Rundschau. Jahrg. 2. 1892. p. 869 u. Jahrg. 3. 1893. p. 669.
3) **de Man**, Arch. f. Hyg. Bd. 18. 1893. p. 133. Diss. Jena 1893.
4) Verslagen der Zittingen van de Wis- en Natuurk. Afd. der kon. Akad. van Wetensch. vergad. van 25. Juni 1892. p. 7 en van 24. Juni 1893. p. 49.
5) **Bonhoff**, Hyg. Rundschau. Jahrg. 2. 1892. p. 1009.
6) **Levy**, E. und **Bruns**, Hyg. Rundschau. Jahrg. 11. 1901. No. 14. p. 669*.
7) **Hippius**, Dtsch. med. Wochenschr. 1901. p. 481 u. 504.
8) **Bang**, Zeitschr. f. Tiermed. Bd. 6. 1902. p. 81.
9) **Beck**, Dtsch. Vierteljahrschr. f. öffentl. Gesundheitspfl. Bd. 32. 1900. p. 441.
10) **Bang**, a. a. O., p. 86. Anmerkung.
11) **Morgenroth**, Hyg. Rundschau. Jahrg. 10. 1900. p. 865.
12) **De Jong**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. 48. p. 670. — Nederlandsch Tijdschr. v. Geneesk. Bd. 1. 1909. p. 147.

13) **Basenau**, Vortrag in der allgemeinen Versammlung der „Nederl. Melkhygienische Vereenigung“ im Haag; 7. April 1909; Weekbl. v. Melkhyg. Jahrg. 5. 1909. No. 16. p. 246. Separatabdr. unter dem Titel: Tuberkulose en Pasteurisatie. Den Haag 1909.
14) **Van der Sluis**, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. 50. 1909. p. 378. — Inaug.-Diss. Bern 1909.
15) **Basenau**, Tuberkulose en Pasteurisatie. a. a. O. p. 13.
16) **De Man**, Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. Bd. 1. 1892. p. 766. — Auch Arch. f. Hyg. a. a. O. p. 164.
17) **Fokker**, Nederl. Tijdschr. v. Geneesk. Bd. 1. 1892. p. 702.
18) **Scheurlen**, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 7. p. 279.
19) **Goethardt**, Nederl. Landbouwk. Tijdschr. Jaarg. 5. 1897. p. 304.
20) **De Jong**, a. a. O. p. 152.
21) **Van der Sluis**, a. a. O. p. 388. Diss. p. 12.
22) **Levy**, E. und **Bruns**, H., Dtsch. med. Wochenschr. Jahrg. 26. 1900. p. 141.
23) **Levy**, L., Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 55. 1904. p. 172.
24) **Koning**, C. J., Pharmaz. Weekbl. Jaarg. 46. 1909. p. 419.
25) **Beer**, H., Weekbl. v. Melkhyg. Jaarg. 2. 1906. p. 113.

Nachdruck verboten.

Ueber die Einwirkung der Pyocyanase auf das Diphtherietoxin.

[Aus dem opsonischen Laboratorium (Abt. des Path. Inst. d. Kgl. S. Tierärztl. Hochsch.) zu Dresden.]

Von Privatdozenten Dr. med. **Strubell**, Dresden.

Emmerich und **Löw** (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 31. 1899. p. 33 u. p. 50—53) haben durch ihre Versuche die Einwirkung der Pyocyanase auf den Erreger der Diphtherie und sein Toxin in dem Sinne konstatieren können, daß die Pyocyanase nicht nur die Diphtheriebacillen abtötet, sondern auch das Diphtherietoxin bindet resp. unwirksam macht. **Emmerich** hat auf Grund dieser Versuche, welche auch **Escherich** bestätigen konnte, die Behandlung der Diphtherie durch Bestäubung mit Pyocyanase aufgebaut, wobei er sich besonders noch darauf stützt, daß die Pyocyanase vor dem **Behring**schen Diphtherieheilserum die Vernichtung und Auflösung der pyogenen Strepto- und Staphylokokken bei den sogenannten Diphtheriemischinfektionen besorge (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 45. p. 2217 ff.). Es erschien mir von Wichtigkeit, die der Zahl nach geringen Versuche von **Emmerich** und **Löw** zu ergänzen. Ich bringe in der Folge eine Anzahl von Injektionsversuchen an Meerschweinchen, Kaninchen, sowie an einigen Igeln, welche die Klarlegung dieser Frage zum Gegenstande hatten.

I. Versuch: 28. Mai 08 $6^{1}/_{2}$ Uhr nachmittags. Pyocyanase und sterile Kochsalzlösung werden āā 10,0 vermischt und von der Lösung wird einem Meerschweinchen von 700 g in die Muskulatur der rechten hinteren Extremität geimpft. Injektion von 2 ccm, entsprechend 1 ccm Pyocyanase.

29. Mai mittags: Das Tier ist krank, frißt nicht; die geimpfte Extremität ist geschwollen und fühlt sich heiß an, die Hoden sind gleichfalls geschwollen.

30. Mai: Derselbe Zustand.

5. Juni: Das Tier lebt noch, die hintere Extremität ist noch immer empfindlich.

II. Versuch: 28. Mai 08 $6^{1}/_{2}$ Uhr nachmittags. Ein Meerschweinchen von 500 g wird geimpft mit 2 ccm der obigen Lösung, entsprechend 1 ccm Pyocyanase.

29. Mai: Das geimpfte Bein ist stark geschwollen und steif, fühlt sich heiß an.

30. Mai: Tier noch krank.

5. Juni: Tier lebt noch, ist wieder gesund.

III. Versuch: 28. Mai 08. Ein Kaninchen von 1020 g wird geimpft mit 2 ccm der obigen Lösung, entsprechend 1 ccm Pyocyanase, in die rechte hintere Extremität.

30. Mai: Das Tier hat gefressen. Hintere Extremität geschwollen.

5. Juni: Das Tier ist gesund.

IV. Versuch: 28. Mai 08. Ein Igel, grau, 380 g, wird geimpft mit 4 ccm der obigen Lösung, entsprechend 2 ccm Pyocyanase.

30. Mai: Das Tier frißt, ist gesund.

5. Juni: Das Tier ist gesund.

29. Mai 08 11^{30} vormittags. Es werden 2 Lösungen bereitet: a) 10 ccm sterile Kochsalzlösung und 2 ccm 1$^1/_2$-faches Diphtherietoxin werden miteinander gemischt. b) 10 ccm Pyocyanase werden mit 2 ccm 1$^1/_2$-fachem Diphtherietoxin gemischt.

Mit Lösung a wird geimpft:

V. Versuch: Ein Meerschweinchen von 500 g erhält 1 ccm der Lösung a, entsprechend 0,17 Diphtherietoxin, in die rechte hintere Extremität eingeimpft.

29. Mai abends: Das Tier ist bereits krank.

30. Mai mittags: Tod. Gleich darauf Sektion: Die Nebennieren sind gerötet, keine Infiltration an der Infektionsstelle der hinteren Extremität, keine Oedeme.

VI. Versuch: 29. Mai mittags. Ein Kaninchen von 1700 g wird geimpft mit 1 ccm der Lösung a, entsprechend 0,17 Diphtherietoxin, in die rechte hintere Extremität.

29. Mai abends: Das Tier ist krank.

30. Mai mittags: Tod. Sektion: Keine Veränderungen an der Impfstelle. Die Nebennieren sind gerötet.

VII. Versuch: 29. Mai mittags. Ein Meerschweinchen von 250 g wird geimpft mit 1 ccm der Lösung b, entsprechend 0,17 Diphtherietoxin, in die rechte hintere Extremität.

29. Mai abends: Das Tier ist krank und stirbt in der Nacht vom 29. auf 30. Mai. Sektion: Nebennieren fast normal. Schwellung an der Impfstelle.

VIII. Versuch: 29. Mai mittags. Ein Kaninchen von 1630 g erhält 1 ccm von Lösung b, entsprechend 0,17 Diphtherietoxin, in die rechte hintere Extremität.

29. Mai abends: Das Tier ist krank.

30. Mai mittags: Tier krank. 4 Uhr p. m. Tod. Sektion: Nebennieren blaßrot.

---

30. Mai: Die gestrigen Lösungen a und b haben bis zum 30. Mai 6 Uhr p. m. im Brutschrank gestanden, also 30$^1/_2$ Stunden.

IX. Versuch: 30. Mai 6 Uhr abends. Ein Meerschweinchen von 380 g wird mit Lösung a geimpft: 1 ccm, entsprechend 0,17 Diphtherietoxin, in die rechte hintere Extremität.

31. Mai morgens: Das Tier ist krank.

31. Mai 6 Uhr abends: Das Tier zittert. 7 Uhr abends: Tod. Die Sektion ergab: Keine Schwellung an der Infektionsstelle, Nebennieren gerötet.

X. Versuch: 30. Mai 6 Uhr abends. Ein Kaninchen von 1900 g erhält 1 ccm der Lösung a = 0,17 Diphtherietoxin.

31. Mai 4 Uhr p. m. Tod. Sektion: Nebennieren gerötet.

XI. Versuch: 30. Mai 6 Uhr abends. Ein Meerschweinchen von 460 g wird mit 1 ccm der Lösung b = 0,17 Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität geimpft.

31. Mai 6 Uhr abends: Das rechte Bein ist steif. Beträchtliche Schwellung. 9$^1/_2$ Uhr abends: Tod. Die Sektion ergab intensives Oedem an der Impfstelle der rechten hinteren Extremität. Die Nebennieren sind gerötet.

XII. Versuch: 30. Mai 6 Uhr abends. Ein Kaninchen von 1500 g erhält 1 ccm der Lösung b = 0,17 Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität geimpft.

31. Mai 6 Uhr abends: Das Tier ist krank, frißt nicht.

1. Juni 12 Uhr mittags: Tier krank, schleift den rechten Hinterfuß. Frißt nicht.

2. Juni nachts: Tod. Sektion: Nebennieren wenig gerötet. Injektionsstelle sulzig infiltriert.

---

1. Juni 12 Uhr mittags: Dieselben Lösungen a und b haben bis jetzt im sterilen Gefäß im Brutschrank gestanden, also 72 Stunden.

XIII. Versuch: 1. Juni 12 Uhr mittags. Ein Meerschweinchen von 410 g erhält 1 ccm der Lösung a = 0,17 Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität geimpft.

2. Juni morgens: Das Tier ist krank.

2. Juni $^1/_2$1 Uhr mittags: Tod. Sektion: Nebennieren gerötet.

XIV. Versuch: 1. Juni 12 Uhr mittags. Ein Kaninchen von 1600 g erhält 1 ccm von Lösung a = 0,17 Diphtherietoxin.

2. Juni morgens: Das Tier ist krank, zwischen 12 und 1 Uhr mittags tot. Die Sektion ergab: Nebennieren stark gerötet.

XV. Versuch: 1. Juni 12 Uhr mittags. Ein Meerschweinchen von 535 g erhält 1 ccm von Lösung b = 0,17 Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität eingeimpft.

3. Juni: Das Tier frißt schlecht. Schwellung an der Injektionsstelle.

4. Juni: Das Tier frißt schlecht. Die Schwellung ist zurückgegangen.

5. Juni: Das Tier frißt schlecht. Die Schwellung ist wieder stärker.

6. Juni: Das Tier frißt schlecht, ist krank.

7. Juni: Das Tier frißt nicht. Schwellung stärker.

9. Juni 6 Uhr früh: Tod. Sektion: Starkes Oedem der geimpften Extremität. Nebennieren blaß.

XVI. Versuch: 1. Juni 12 Uhr mittags. Ein Kaninchen von 1600 g erhält 1 ccm von Lösung b = 0,17 Diphtherietoxin.

3. Juni: Das Tier frißt schlecht.

4. Juni: Das Tier frißt schlecht; hat ein Junges geworfen.

5. Juni: Das Tier frißt schlecht. Starke Schwellung an der Impfstelle der rechten hinteren Extremität.

6. Juni: Das Tier frißt schlecht, ist krank.

7. Juni morgens: Das Tier frißt schlecht. $^1/_2$9 Uhr abends: Tod. Sektion: Beträchtliches Oedem der rechten Extremität. Nebennieren weiß.

---

3. Juni $^3/_4$12 Uhr mittags: Dieselben Lösungen a und b standen im sterilen Gefäß bis heute im Brutschrank, also 96 Stunden.

XVII. Versuch: 3. Juni $^3/_4$12 Uhr mittags. Ein Meerschweinchen von 320 g wird geimpft mit 1 ccm von Lösung a = 0,17 Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität.

4. Juni $11^1/_4$ Uhr vormittags: Tod. Sektion: Nebennieren gerötet. Kein Oedem an der Injektionsstelle.

XVIII. Versuch: 3. Juni $^3/_4$12 Uhr mittags. Ein Kaninchen von 1600 g wird geimpft mit 1 ccm von Lösung a = 0,17 Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität.

4. Juni $11^1/_4$ Uhr vormittags: Tod. Sektion: Ascites. Die Nieren stark kongestioniert, Nebennieren blaß, Milz stark gerötet.

XIX. Versuch: 3. Juni $^3/_4$12 Uhr mittags. Ein Meerschweinchen von 280 g erhält 1 ccm von Lösung b = 0,17 Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität.

4. Juni: Das Tier lebt und frißt.

5. Juni mittags: Das Tier frißt weniger. Schwellung der rechten hinteren Extremität an der Impfstelle.

6. Juni: Das Tier frißt schlecht.

7. Juni mittags: Tod. Sektion: Sulziges Oedem an der Impfstelle. Nebennieren stark gerötet.

XX. Versuch: 3. Juni $^3/_4$12 Uhr mittags. Ein Kaninchen von 1800 g wird geimpft mit 1 ccm von Lösung b = 0,17 Diphtherietoxin.

4. Juni: Das Tier lebt, frißt mäßig.

5. Juni: Das Tier frißt mäßig; Schwellung der geimpften Extremität vorhanden.

6. Juni: Das Tier frißt mäßig.

7. Juni: Das Tier frißt besser. Starkes Oedem an der Impfstelle.

11. Juni: Das Tier ist scheinbar gesund.

13. Juni 5 Uhr p. m.: Tod. Sektion: Nebennieren leicht gerötet. Schwellung der geimpften Extremität vorhanden.

---

5. Juni:

XXI. Versuch: 5. Juni 12 Uhr mittags. Ein Meerschweinchen von 700 g wird geimpft mit 2 ccm reiner Pyocyanase in die rechte hintere Extremität.

7. Juni: Das Tier frißt gut.

8. Juni: Das Tier ist gesund. Schwellung der Extremität vorhanden.

XXII. Versuch: 5. Juni 12 Uhr mittags. Ein Meerschweinchen von 500 g wird geimpft mit 2 ccm reiner Pyocyanase in die rechte hintere Extremität.

7. Juni: Das Tier frißt gut.

8. Juni: Das Tier ist gesund.

XXIII. Versuch: 5. Juni 12 Uhr mittags. Ein Kaninchen von 1000 g wird geimpft mit 2 ccm reiner Pyocyanase.

7. Juni: Das Tier befindet sich wohl.

8. Juni: Das Tier ist gesund.

Diese 3 Versuchstiere vom 5. Juni leben am 11. Juni noch und haben starke Infiltrationen in den hinteren Extremitäten. Bleiben gesund.

7. Juni 6 Uhr abends: Es werden 2 Lösungen bereitet: a) 8 ccm sterile Kochsalzlösung + 2 ccm Diphtherietoxin und b) 8 ccm Pyocyanase + 2 ccm sterile Kochsalzlösung.

XXIV. Versuch: 7. Juni 6 Uhr abends. Ein Meerschweinchen, hinten weiß, 380 g schwer, wird geimpft mit 0,5 ccm von Lösung a in die rechte hintere Extremität, mit 1 ccm von Lösung b in die linke hintere Extremität. Das Tier erhält also: In die rechte hintere Extremität 0,1 Diphtherietoxin, in die linke 0,8 Pyocyanase.

8. Juni 8 Uhr a. m.: Tod. Sektion: Nebennieren stark gerötet.

XXV. Versuch: 7. Juni 6 Uhr abends. Ein Meerschweinchen, hinten links weiß, von 330 g Gewicht, wird geimpft mit 0,5 ccm von Lösung a = 1,1 ccm Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität und 1 ccm von Lösung b = 0,8 ccm Pyocyanase in die linke hintere Extremität.

8. Juni 5 Uhr p. m.: Tod. Sektion: Nebennieren stark gerötet.

XXVI. Versuch: 7. Juni 6 Uhr abends. Ein Meerschweinchen, weiß, 230 g, erhält 0,5 ccm von Lösung a = 0,1 ccm Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität.

8. Juni 5 Uhr p. m.: Tod. Sektion: Nebennieren gerötet.

11. Juni 7 Uhr abends: Die Lösungen a und b vom 7. Juni haben bis jetzt im Brutschrank gestanden, also 25 Stunden.

XXVII. Versuch: 11. Juni 7 Uhr abends. Ein Meerschweinchen, braun-schwarz, 540 g, erhält 0,5 ccm von Lösung a = 0,1 ccm Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität und 2,0 ccm von Lösung b = 1,6 ccm reine Pyocyanase in die linke hintere Extremität.

12. Juni früh vor 8 Uhr: Tod. Sektion: Nebennieren kolossal geschwollen und gerötet. Oedeme und Absceßbildung an den beiden geimpften hinteren Extremitäten.

XXVIII. Versuch: 11. Juni 7 Uhr abends. Ein Meerschweinchen, gelb-braun, 430 g, erhält 0,5 ccm von Lösung a = 0,1 ccm Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität und 2,0 ccm von Lösung b = 1,6 ccm reine Pyocyanase in die linke hintere Extremität.

12. Juni 8 Uhr früh: Tod. Sektion: Schwellung der linken hinteren Extremität. Nebennieren wenig gerötet.

XXIX. Versuch: 11. Juni 7 Uhr abends. Ein Kaninchen von 1170 g wird geimpft mit 0,5 ccm, = 0,1 ccm Diphtherietoxin, von Lösung a in die rechte hintere Extremität.

12. Juni 8 Uhr früh: Tod. Sektion: Nebennieren blaß.

13. Juni 11$^{1}/_{2}$ Uhr vormittags: Impfung mit reiner Pyocyanase in die Ohrvene.

XXX. Versuch: 13. Juni 11$^{1}/_{2}$ Uhr vormittags. Ein Kaninchen, grau-braun, 1500 g, erhält 2 ccm reine Pyocyanase in die Ohrvene.

13. Juni zwischen 4 und 5 Uhr p. m.: Tod. Sektion: Im allgemeinen nichts Besonderes; Nebennieren blaß.

XXXI. Versuch: 13. Juni 11$^{1}/_{2}$ Uhr vormittags. Ein Kaninchen, 1400 g, wird geimpft mit 2 ccm reiner Pyocyanase in die Ohrvene.

14. Juni: War gestern krank, frißt heute.

15. Juni: Frißt gut.

18. Juni: Das Tier lebt und ist gesund.

15. Juni 11$^{1}/_{2}$ Uhr a. m.: Impfung mit reiner Pyocyanase in die Ohrvene.

XXXII. Versuch: 15. Juni 11$^{1}/_{2}$ Uhr vormittags. Ein Kaninchen, grau-braun, 1500 g, erhält 2 ccm reine Pyocyanase in die rechte Ohrvene.

10. Juni: Tier lebt und frißt.

20. Juni: Das Tier ist gesund.

25. Juni: Das Tier ist gesund

XXXIII. Versuch: 15. Juni 11$^{1}/_{2}$ Uhr vormittags. Ein Kaninchen von 1400 g erhält 2 ccm reine Pyocyanase in die Ohrvene.

18. Juni: Das Tier lebt und frißt.

20. Juni: Das Tier lebt und ist gesund.

25. Juni: Das Tier ist völlig gesund.

15. Juni: Es werden 2 Lösungen bereitet: a) 2 ccm Diphtherietoxin + 8 ccm reine Pyocyanase, b) 2 ccm Diphtherietoxin + 8 ccm sterile Kochsalzlösung. Die Lösungen werden in sterilem Gefäß in den Brutschrank gestellt.

15. Juni 7½ Uhr abends: Injektionen von dialysierter Pyocyanase.

XXXIV. Versuch: Ein Meerschweinchen, weiß, 600 g, erhält 2 ccm dialysierter Pyocyanase in die rechte hintere Extremität.

18. Juni: Es sind fast keine Reizerscheinungen aufgetreten. Schwellung gering.

24. Juni: Das Tier ist gesund.

XXXV. Versuch: Ein Meerschweinchen, weiß, 550 g, erhält am 15. Juni 7½ Uhr abends 2 ccm dialysierter Pyocyanase in die rechte hintere Extremität.

18. Juni: Reizerscheinungen und Schwellung gering.

24. Juni: Das Tier ist gesund.

19. Juni: Die beiden Lösungen a und b vom 15. Juni haben seit diesem Tage im sterilen Gefäß im Brutschrank gestanden, also 96 Stunden lang.

XXXVI. Versuch: Ein Kaninchen, grau, 1300 g, erhält am 19. Juni 12 Uhr mittags 1 ccm von Lösung a = 0,2 ccm Diphtherietoxin und 0,8 ccm Pyocyanase in die Ohrvene.

19. Juni 9½ Uhr abends: Das Tier ist gesund.

20. Juni 6½ Uhr abends: Das Tier ist gesund.

25. Juni: Das Tier ist gesund und frißt.

XXXVII. Versuch: Ein Kaninchen, schwarz-weiß, 900 g, erhält am 19. Juni 12 Uhr mittags 1 ccm von Lösung b = 0,1 ccm Diphtherietoxin in die Ohrvene.

19. Juni 6 Uhr abends: Das Tier ist etwas krank.

20. Juni nach 2 Uhr p. m.: Tod. Sektion: Nebennieren wenig gerötet.

XXXVIII. Versuch: 19. Juni 12 Uhr mittags. Ein Meerschweinchen, weiß, 600 g, erhält 1 ccm von Lösung a = 0,1 ccm Diphtherietoxin und 0,8 ccm Pyocyanase in die rechte hintere Extremität.

19. Juni 6½ Uhr abends: Das Tier ist gesund.

20. Juni: Das Tier ist gesund.

24. Juni 9 Uhr vormittags: Tod. Das Tier war mehrere Tage krank. Sektion: Nebennieren kolossal vergrößert und gerötet.

XXXIX. Versuch: 19. Juni 12 Uhr mittags. Ein Meerschweinchen, schwarz-weißgelb, 450 g, erhält 1 ccm von Lösung b = 0,1 ccm Diphtherietoxin in die rechte hintere Extremität.

19. Juni 6½ Uhr abends: Das Tier ist gesund.

20. Juni 2 Uhr p. m.: Tod. Sektion: Nebennieren stark gerötet.

Aus den vorliegenden Versuchsprotokollen ergibt sich:

1) Die Unschädlichkeit quoad vitam der reinen und der verdünnten Pyocyanase bei subkutaner Injektion in den von mir verwendeten Dosen (siehe Versuch I, II, III, IV, XXI, XXII, XXIII).

2) Was die Impfung mit reiner Pyocyanase intravenös in die Ohrvene von Kaninchen anlangt (Versuch XXX, XXXI, XXXII, XXXIII), so scheint sie in der von mir verwendeten Dosis von 2 ccm reiner Pyocyanase nicht völlig ungefährlich zu sein, denn das Kaninchen in Versuch XXX starb etwa 5 Stunden nach der Injektion; die anderen blieben leben.

3) Anatomische Veränderungen scheint die intravenöse Injektion selbst, wenigstens soweit ich konstatieren konnte, nicht hervorzurufen, während die subkutane Injektion, schon entsprechend dem hohen Salzgehalt der Pyocyanase, erhebliche lokale Reizungen entzündlicher Natur von der entzündlichen Schwellung bis zur Absceßbildung bewirken kann. Solche Reizerscheinungen sind bei der dialysierten Pyocyanase (Versuch XXXIV und XXXV), entsprechend dem geringeren Salzgehalte, bedeutend geringer.

4) Was die Einwirkung der Pyocyanase auf das Diphtherietoxin in vitro anlangt, so ergeben die Versuche V

bis XX, daß anscheinend eine sofortige Einwirkung nicht stattfindet. Die beiden Tiere, ein Meerschweinchen und ein Kaninchen (Versuch VII und VIII), die mit dem eben bereiteten Pyocyanase-Diphtherietoxingemisch geimpft worden waren, starben ebenso schnell resp. früher als die bloß mit Diphtherietoxin geimpften Kontrolltiere, während schon nach 24-stündiger Einwirkung der Pyocyanase auf das Diphtherietoxin (Versuch XI und XII) wenigstens das eine Tier (Kaninchen, Versuch XII) um 20 Stunden später starb als das Kontrolltier (Versuch X), während das in Versuch XI nur um 2½ Stunden später verendete als das Kontrolltier in Versuch IX. Dagegen starben in den Versuchen XIII—XVI die Kontrolltiere XIII und XIV, welche genau wie die Tage vorher je 0,17 ccm Diphtherietoxin bekommen hatten, prompt nach 24 Stunden, während die mit dem 3 Tage = 72 Stunden im sterilen Gefäß im Brutschrank aufbewahrten Pyocyanase-Diphtherietoxingemisch geimpften Versuchstiere XV und XVI die Kontrolltiere das eine (XVI) um 5, das andere (XV) um 7 Tage überlebten. Daß eine Steigerung dieser Einwirkung noch möglich sei, ergaben die Versuche XVII—XX, wo zwar das eine Versuchstier (XIX) das Kontrolltier nur um 3 Tage, das andere Versuchstier aber (Kaninchen, Versuch XX) das Kontrolltier um 9 Tage überlebte. Ich kann somit nach diesen Versuchen an einer Einwirkung der Pyocyanase auf das Diphtherietoxin in vitro, welche sich steigend mit der Zeit bis zu einem gewissen Grade vermehrt, nicht zweifeln.

5) Die gleichzeitige Injektion von 0,1 ccm Diphtherietoxin (verdünnt mit physiologischer Kochsalzlösung) in die eine, und von Pyocyanase in die andere Extremität konnte offenbar keinen Einfluß auf die Lebensdauer der Versuchstiere ausüben (Versuch XXIV, XXV, XXVI, XXVII, XXVIII, XXIX), da sämtliche Tiere nach derselben Zeit wie das Kontrolltier XXVI starben.

6) Nach 96-stündiger gegenseitiger Einwirkung von Diphtherietoxin und Pyocyanase (Versuch XXXVI bis XXXIX) blieb nicht nur das subkutan mit dem Gemisch geimpfte Meerschweinchen XXXVIII 4 Tage länger leben als das nur mit Diphtherietoxin geimpfte Kontrolltier XXXIX, sondern das mit dem Gemisch in die Ohrvene injizierte Tier (Kaninchen XXXVI) war 5 Tage nach dem Tode des Kontrolltieres völlig gesund und hat reichlich gefressen. — Leider mußte ich nach diesem Termin selber abreisen und kann über den weiteren Verbleib dieses Tieres nichts weiter aussagen. Auf alle Fälle ist es bemerkenswert, daß das Tier 5 Tage nach dem Tode des Kontrolltieres völlig gesund war.

Resumee.

Ich halte nach diesen Versuchen die Einwirkung der Pyocyanase auf das Diphtherietoxin in vitro im Sinne einer Verminderung der Giftigkeit des Diphtherietoxins für erwiesen. Ich enthalte mich jeder Aeußerung darüber, welcher Art diese Verminderung der Giftigkeit (Giftbindung? Giftzerstörung?) sei. Eine Verminderung der Giftigkeit bei gleichzeitiger Injektion von Pyocyanase und Diphtherietoxin an verschiedenen Stellen des Versuchstieres resp. eine Giftbindung oder Zerstörung im Tierkörper scheint mir nicht stattzufinden, wie dies auch Saar (Dtsche med. Wochenschr. 1908. No. 36) konstatiert hat.

Nachdruck verboten.

Zu der Mitteilung von C. Bezzola: „Ueber die bakteriolytischen Eigenschaften des Paratyphus-B-Immunserums“[1]).

Von Dr. **Karl Landsteiner.**

Anläßlich dieser Mitteilung möchte ich an unbeachtet gebliebene Versuche erinnern, die ich im Jahre 1897 veröffentlicht habe[2]). Es hatte sich damals bei der Untersuchung eines Mäusetyphusimmunserums gezeigt, daß dieses Serum als solches keine beträchtliche bakterizide Wirkung hatte, und ebensowenig nach den Versuchen mit normalem Serum. Eine starke Wirkung trat aber ein, wenn das Immunserum mit zellhaltigen Exsudatflüssigkeiten vermischt wurde; in viel geringerem Grade bei der Verwendung zellfreier Exsudatflüssigkeit. Ich beabsichtige, die Erscheinung, wie ich auf der Tagung der fr. Ver. f. Mikrobiologie 1909 anläßlich eines Vortrages von Weil erwähnte, näher zu untersuchen und ähnliche Versuche bei anderen Arten von Mikroben auszuführen.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu der Abhandlung von Carlo Bezzola in Bd. 50, p. 519: Können die Muskeln als Bildungsstätte der Antikörper betrachtet werden?

Von Prof. Dr. **L. Heim,** Erlangen.

Daß Schutzstoffe in verschiedenen und ausgedehnten Zellgebieten des immunisierten Körpers sitzen und die Muskulatur reichlich davon enthält, habe ich lediglich für die Pneumokokkeninfektion erwiesen. Daß die Tatsache allgemeine Gültigkeit haben solle, habe ich nicht behauptet, vielmehr es als eine Frage der Zukunft hingestellt, ob eine Zyto- bezw. Zytoserotherapie bei der Pneumonie und auch bei anderen Infektionskrankheiten in Betracht kommen werde.

Wenn Bezzola bei dem hohen bakteriziden Serumtiter von 0,0001 aus den Muskeln des gleichen Tieres, nachdem sie 20 Stunden mit der sechsfachen Menge physiologischer Kochsalzlösung geschüttelt worden waren, einen Titer von 0,1 — also 166mal, nicht 16mal, wie er ausgerechnet hat, niedriger — erhalten hat, kann man annehmen, daß er als wirk-

---

[1]) Dieses Centralbl. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. p. 541.

[2]) Wiener klin. Wochenschr. 1897. No. 19.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

samen Bestandteil in seinem Schüttelextrakt das in den Muskeln noch vorhandene Blut hatte, wofür auch eine leicht anzustellende Rechnung stimmt, wenn man den Blutgehalt der Muskeln des entbluteten Tieres zu nur 1 Proz. annimmt. Zur Entscheidung der Frage, ob die Muskeln allein Schutzstoffe liefern können, muß man sie von den Blutresten befreien, was z. B. mit der hydraulischen Presse geschehen kann: Aus den bei einem Druck von über 300 Atmosphären ausgepreßten, im Sand und Kieselgur verbliebenen Muskelfasern konnte ich durch Fermentation noch reichliche Schutzstoffe gegen die Pneumokokkeninfektion gewinnen.

Die geringe Ausbeute Bezzolas kann einerseits mit der Art der Fermentierung zusammenhängen, anderseits davon herrühren, daß die bakteriziden Choleraschutzstoffe empfindlicher gegen die angewandten Eingriffe sind, oder daß die Muskeln tatsächlich nur wenig davon enthalten. Ein zwingender Beweis für die letztere Möglichkeit ist bis jetzt nicht geliefert, denn die Zahl der Versuche ist zu gering gewesen. Seine Technik wich von der meinigen ab. Ich habe die Anaërobiose niemals unter Luftabschluß durchgeführt, im Gegenteil in möglichst niedriger Schicht und bei möglichst großer Oberfläche (z. B. in Erlenmeyerschen Kolben von 100—120 und mehr Millimeter Bodenfläche und bei etwa 12—25 mm Höhe der Flüssigkeit, je nach der größeren oder geringeren Menge), um den Bakterien eine große Angriffsfläche zu geben; denn in Röhren mit hoher Schicht geht die fermentative Auflösung wesentlich langsamer und unvollkommener vor sich. Die fermentierte Aufschwemmung wurde in der Regel auf einfaches Filtrierpapier gegeben, nur ausnahms- und vergleichsweise unter 2—4 Atmosphären Druck tunlichst rasch durch ein bakterienzurückhaltendes Filter geschickt, und zwar durch Asbest, der weniger verschlickt, mehr kolloidale Stoffe durchläßt und überhaupt manche Vorzüge vor den harten Massen aus Kieselgur und dergleichen hat.

Die Art der Erschließung von Schutzstoffen aus entfetteten, trockenen Muskeln und Organen, die in diesem Zustande zur beliebigen Verwendung unverändert aufbewahrt werden können, ist das grundsätzlich Neue meiner Veröffentlichung gewesen. Meine Voraussetzung war es, daß die Schutzstoffe in den Geweben und eiweißhaltigen Flüssigkeiten zu sehr eingeschlossen sind, als daß man sie mit den bisherigen Methoden hätte nachweisen können. Ihre Richtigkeit ist durch viele Versuchsreihen bestätigt worden, wobei zu erwähnen ist, daß ich nicht bloß ein immunisiertes Kaninchen, wie Bezzola schreibt, sondern eine Anzahl (damals 7, bis jetzt 12) untersucht habe. Zu meiner Verwunderung lese ich bei Bezzola: „Die Erklärung dieser Tatsache“ (daß man aus entfettetem, trockenem Muskelpulver durch Fäulnis Schutzstoffe frei machen könne) „scheint mir ganz einfach zu sein“ und finde dann meinen Gedankengang, der mich zu und bei meinen Studien über die Freimachung der Schutzstoffe durch fermentative Lösung des Eiweißes geleitet hat, als seine Ansicht darlegt! Damit hat Bezzola das als selbstverständlich erklärt, was nicht bekannt war, bis es durch meine Untersuchungen erwiesen worden ist.

Nachdruck verboten.

Ueber die desinfektorische Wirkung der Zahncreme Kolynos.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität zu Greifswald. Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Loeffler.]

Von Dr. **E. Walter.**

Kolynos ist der Name für eine Zahncreme, die kürzlich von dem Hofrat Dr. Newell Sill Jenkins[1]) empfohlen worden ist, und die sich von zahlreichen anderen im Handel befindlichen Präparaten durch ihre physikalischen und chemischen Eigenschaften vorteilhaft unterscheiden soll. Nach den Angaben des Autors hat sie folgende Zusammensetzung:

Seife	33,0
gefällter Kalk	25,0
absoluter Alkohol	20,0
Glyzerin	15,0
Benzoesäure	3,0
Eucalyptusöl	2,0
Pfefferminzöl	2,0
Saccharin	0,5
Thymol	0,25

Der Kalk in der Creme dient zur mechanischen Reinigung der Zähne und des Zahnfleisches. Trotz dieses Zusatzes ist das Entstehen von Erosionen, das nach ständiger Benutzung kalkhaltiger Zahnreinigungsmittel häufiger beobachtet wird, nicht zu befürchten, da durch die Verbindung des Kalkes mit Seife ein leichtes Gleiten der einzelnen Kalkpartikelchen bewirkt wird. Die Seife, die für diesen Zweck besonders hergestellt sein soll, dient aber nicht nur als Gleitmittel für den Kalk, sondern es kommt auch ihre fettlösende Kraft in Betracht. Außerdem dient sie als Grundlage für die übrigen in der Creme enthaltenen Stoffe.

Hinsichtlich ihrer chemischen Beschaffenheit sollte die Zahncreme ein ausgezeichnetes Desinfektionsmittel gegenüber den hauptsächlich in der Mundhöhle vorkommenden pathogenen Bakterien sein. Diese Eigenschaft, die für den Bakteriologen und weiterhin auch für Aerzte und Zahnärzte ein besonderes Interesse darbot, habe ich auf Veranlassung von Herrn Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Loeffler einer eingehenden Nachprüfung unterzogen. Eine Untersuchung dieser Frage schien um so mehr geboten, als wir zurzeit nicht gerade über sehr zahlreiche Mundwässer oder Zahnreinigungsmittel verfügen, denen eine nachweisbar desinfizierende Kraft innewohnt. Nach den Angaben von Pelnár[2]) sind die zumeist benutzten Handelspräparate, wie Odol, Eucalyptusmundwasser, Thymolmundwasser, Eau dentifrice antiseptique Horák u. a. nicht imstande, auf das Wachstum und die Vermehrung von Diphtheriebacillen, Staphylokokken und Pyocyanusbacillen einen nennenswerten Einfluß auszuüben. Es gelang Pelnár nicht, durch 10 Minuten langes Gurgeln mit 6-proz. Lösung die Zahl der im Munde vorhandenen Bakterien herabzudrücken. Gehacktes Fleisch, das 3mal täglich in solche Lösungen hineingelegt wurde, konnte nicht vor Fäulnis bewahrt werden. Pelnár kommt zu dem Resultat, daß sämtliche Angaben über die antiseptische Wirkung der von ihm untersuchten Mundwässer unrichtig sind und daß die Präparate außer ihrem angenehm erfrischenden Geschmack keinen Vorteil bieten.

---

[1]) Dental Review. 1908. November.

[2]) Pelnár, J., Wiener klinische Rundschau. 1902. p. 197 u. 222.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Die Ausführung der Desinfektionsversuche mit der Kolynos-Zahncreme erfolgte nach der im hiesigen Institut üblichen Technik, die von Loeffler zur Prüfung des Einflusses verschiedener Desinfizientien auf Diphtheriebacillen angegeben worden ist[1]. Die verwendeten Lösungen wurden aus abgewogenen Mengen von Kolynos mit sterilem destillierten Wasser hergestellt. 10-proz. Lösungen mußten zwecks gleichmäßiger Verteilung des Mittels schwach erwärmt werden. Stärkere, 20—50-proz. Lösungen, die den praktischen Verhältnissen bei der Anwendung von Kolynos besser entsprochen haben würden als 10-prozentige, wurden nicht experimentell geprüft, weil sie wegen ihrer physikalischen Beschaffenheit schwierig zu handhaben waren. Die erhaltenen Lösungen stellten milchigweiße Flüssigkeiten dar, aus denen sich bei ruhigem Stehen ein starker weißer Bodensatz absetzte. Diese Aufschwemmungen des Präparates wurden zu jedem Versuche frisch hergestellt; während der einzelnen Versuche wurden sie in luftdicht verschlossenen Flaschen gehalten und unmittelbar vor dem Gebrauche kräftig durchgeschüttelt.

Um den entwickelungshemmenden Wert des Mittels kennen zu lernen, wurden Agar- bezw. Serumröhrchen, nachdem das Kondenswasser aus ihnen zuvor abgegossen war, besät, und zwar alle gleichmäßig. Als Aussaatmaterial diente eine Oese aus dem stark getrübten Kondenswasser 24 Std. alter Agar- bezw. Serumkulturen der betreffenden Testbakterien, weil auf diese Weise das Auftragen dicker Bakterienmassen am besten vermieden werden konnte. Die so besäten Röhrchen wurden sofort mit den verschieden starken Kolynoslösungen angefüllt und die Lösung dann nach einer bestimmten Einwirkungsdauer wieder abgegossen. Darauf kamen die Röhrchen, mit dem Wattestopfen wieder verschlossen, für einige Tage in den Brutschrank. Die Feststellung des Resultates erfolgte, nachdem durch mikroskopische Untersuchung erwiesen worden war, daß die gewachsenen Kolonieen zu der ausgesäten Bakterienart gehörten. Die folgende Tabelle gibt das Resultat dieses Versuches wieder.

Tabelle I.

Einwirkungsdauer	10 Minuten			5 Minuten			1 Minute		
Konzentration	10 Proz.	3 Proz.	1 Proz.	10 Proz.	3 Proz.	1 Proz.	10 Proz.	3 Proz.	1 Proz.
Diphtheriebacillen	—	+	++	—	+	++	+	+	++
Typhus	+	++	++	+	++	++	++	++	++
Bact. coli	+	++	++	+	++	++	++	++	++
Staphylococc. aur.	+	++	++	+	++	++	++	++	++

— kein Wachstum, + vereinzelte Kolonieen, ++ zahlreiche zum Teil zusammenhängende Kolonieen.

Auf das Wachstum von Staphylokokken, Typhus- und Coli-Bacillen schien demnach auch die 10-proz. Lösung bei einer Einwirkungsdauer von 10 Minuten, die für den Gebrauch einer Zahncreme als maximal angesehen werden muß, keinen besonders stark schädigenden Einfluß zu haben. Eine gewisse Entwickelungshemmung war aber doch unverkennbar, da die Zahl der Kolonieen im Vergleich mit den nicht mit Kolynos behandelten Kontrollröhrchen deutlich herabgemindert war. Wesentlich stärker zeigte sich die desinfizierende Eigenschaft des Präparates gegenüber den Diphtheriebacillen. Bereits die 3-proz.

---

[1] Loeffler, F., Zur Therapie der Diphtherie. (Deutsche med. Wochenschr. 1891.) — Seydewitz, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Bd. 32. No. 3. p. 222. — Walter, E., Untersuchungen über Festoform. [Inaug.-Dissert.] Greifswald 1907.

Lösung ließ nach einer Einwirkung von 5 Minuten nur noch ganz vereinzelte Keime zur Entwickelung kommen. Die Serumröhrchen, die mit der 10-proz. Lösung 5 bezw. 10 Minuten angefüllt waren, erschienen nach 24 Stunden noch vollkommen steril. Bei mehrtägiger Beobachtung ergab sich, daß auch auf diesen Röhrchen noch einzelne besonders widerstandsfähige Keime zu Kolonieen auswuchsen, doch blieb deren Zahl auf ganz wenige beschränkt.

Bedeutend günstiger gestaltete sich das Resultat der Desinfektionsprüfung bei Verwendung flüssiger Nährböden. 100 Teile gewöhnlicher Nährbouillon wurden mit 10 Teilen Kolynos versetzt und die Mischung kurze Zeit aufgekocht, um bei dem Abwiegen etwa hineingelangte fremde Keime zu vernichten. 10 ccm der Kolynosbouillon wurden dann mit einer Oese der Testbakterien besät. Durch Schütteln wurde sofort eine möglichst gleichmäßige Verteilung des Aussaatmateriales vorgenommen und nach bestimmten Zeiten aus dem Röhrchen eine Oese der Bouillon entnommen und auf erstarrtem Blutserum bezw. Agar ausgestrichen. Zur Kontrolle wurden 10 ccm nicht mit Kolynos versetzter Bouillon in der gleichen Weise behandelt. Hierbei ergab sich folgendes Resultat:

Tabelle II.

Einwirkungsdauer	10 Min.	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	4 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.	Kontrolle
Diphtheriebacillen	—	—	—	—	—	—	—	—	++
Typhus	++	++	++	++	++	+	+	+	++
Bact. coli	++	++	++	++	++	+	+	+	++
Staphylococc. aur.	++	++	++	++	++	+	+	+	++

Typhus-, Coli-Bacillen und Staphylokokken zeigten nach 6—12-stündiger Einwirkungsdauer des Präparates eine deutliche Hemmung ihrer Entwickelung, die jedoch auch nach 24 Stunden noch keine vollständige war. In auffälligem Gegensatz hierzu waren aber Diphtheriebacillen schon nach einer Einwirkungszeit von 10 Minuten nicht mehr zur Entwickelung gelangt. Wiederholte Versuche führten stets zu demselben Ergebnis, deswegen wurden bei der weiteren Prüfung die Proben in noch kürzeren Pausen entnommen, wie dies auch auf der Tabelle III veranschaulicht ist. Auf diese Weise wurde festgestellt, daß für Diphtheriebacillen bereits ein nur 30 Sekunden langes Verweilen in 10-proz. Kolynosbouillon genügt, um ihr weiteres Wachstum zu verhindern. Die nach dieser Zeit aus der Bouillonmischung besäten Serumröhrchen blieben auch bei mehrtägiger Beobachtung vollkommen steril. Dabei zeigten die Kontrollversuche, daß die in die 10 ccm Bouillon eingetragene Bakterienmenge groß genug war, um auf den hieraus besäten Serumröhrchen einen fast gleichmäßigen Rasen von Diphtheriebacillen wachsen zu lassen.

Dieser außerordentlich günstige Desinfektionseffekt gegenüber den Diphtheriebacillen legte den Gedanken nahe, die Wirksamkeit von Kolynos auch gegenüber anderen häufiger im Munde vorkommenden pathogenen Mikroorganismen festzustellen. Zu dem Zweck wurde ein Streptokokkenstamm, der aus dem Rachen eines an schwerer Halsentzündung erkrankten Kindes gewonnen war, in gleicher Weise geprüft. Um zu einem ganz eindeutigen Ergebnis zu gelangen, wurde in die Kolynosbouillon eine größere Bakterienmenge, nämlich die Aufschwemmung einer ganzen 24 Stunden alten Serumkultur eingetragen und dann nach den angegebenen Zeiten stets eine Oese dieser Mischung auf Loefflerschem Blutserum ausgestrichen. Aus der Tabelle III ergibt sich, daß ungeachtet der großen Menge der in die Bouillon eingetragenen Bakterien schon nach 4 Minuten aus der 10-proz. Kolynoslösung kein einziger Keim zur Entwickelung gebracht werden konnte. Die aus der nicht kolynoshaltigen Bouillon besäten Kontrollröhrchen zeigten üppiges Wachstum.

In der gleichen Weise wurden nun auch Pneumokokken der Einwirkung des Mittels ausgesetzt, nur wurden bei diesen Versuchen die Aussaaten auf Blutagar, auf dem die Pneumokokken besonders kräftig und üppig gediehen, vorgenommen. Auch diesmal wurde die Aufschwemmung einer ganzen Blutagarkultur mit der Kolynosbouillon vermischt. Aus den sofort nach dem Durchschütteln entnommenen Proben gelang es nicht, auch nur einen der eingetragenen Keime zur Entwickelung zu bringen. Durch die 10-proz. Kolynosbouillon wird somit eine fast momentan eintretende Abtötung der Pneumokokken bewirkt.

Tabelle III.

	Einwirkungsdauer								Kontrolle
	sofort	½ Min.	1 Min.	2 Min.	4 Min.	6 Min.	8 Min.	10 Min.	
Diphtheriebacillen	+	—	—	—	—	—	—	—	++
Pneumokokken	—	—	—	—	—	—	—	—	++
Streptokokken	+	+	+	+	—	—	—	—	++

Nach diesen Feststellungen über die Abtötung der Bakterien in vitro war es von großem Interesse zu ermitteln, ob es auch gelingen würde, in vivo, unter natürlichen Bedingungen in der Mundhöhle vorhandene Krankheitserreger durch regelmäßigen Gebrauch von Kolynos zu beseitigen. Da Fälle von Diphtherie oder Streptokokkenangina nicht zur Verfügung standen, wurden die Versuche vor der Hand auf die Abtötung von Pneumokokken beschränkt. Die Pneumokokken schienen für die Prüfung dieser Frage besonders geeignet, weil sie in der Mundhöhle zahlreicher Menschen vorkommen, und weil ihr Vorhandensein und ihre Virulenz in verhältnismäßig einfacher Weise durch Impfung auf weiße Mäuse festgestellt werden kann. Die Vorversuche gingen deshalb zunächst dahin, ein Individuum zu finden, in dessen Zahnschleim Pneumokokken reichlich vorhanden waren. Es wurde von einer Reihe von Personen Zahnschleim entnommen und auf weiße Mäuse verimpft. Von dem Zahnschleim einer der untersuchten Personen starben die geimpften Mäuse nach 24 bezw. 48 Stunden. Die mikroskopische Untersuchung der Milzausstriche ergab das Vorhandensein von Pneumokokken, und aus dem Herzblut angelegte Kulturen ließen Pneumokokken in Reinkultur wachsen. Der Mann, der diese Pneumokokken beherbergte, wurde nun gehalten, an drei aufeinanderfolgenden Tagen seine Zähne je einmal 5 Minuten hindurch gründlich mit Kolynos zu bürsten. Etwa 2 Stunden nach jeder Reinigung wurde Zahnschleim von ihm entnommen und auf je 2 weiße Mäuse subkutan verimpft. Die nach der ersten Zahnreinigung geimpften Mäuse starben nach 2 bezw. 3 Tagen, und zwar, wie die bakteriologische Untersuchung ergab, an Pneumokokken. Die nach der zweiten Zahnreinigung geimpften Mäuse starben nach 4 bezw. 5 Tagen. Die mikroskopische Untersuchung der Milzausstriche und des Herzblutes ergab, daß in dem Blute der Tiere zahlreiche an beiden Enden spitz auslaufende Bakterien vorhanden waren, die nach ihrem kulturellen

Verhalten als Anaërobier ausgesprochen werden mußten. Außerdem aber waren auch noch einige Pneumokokken im Blute nachweisbar. Die Tiere sind somit nicht an einer reinen Pneumokokkeninfektion gestorben, sondern an einer Mischinfektion der an Menge überwiegenden anaëroben Bakterien und der Pneumokokken. Die nach der dritten Zahnreinigung geimpften Mäuse starben erst nach 6 bezw. 17 Tagen. In dem Blute und in der Milz dieser Tiere konnten keine Pneumokokken mehr nachgewiesen werden. Außer den eben erwähnten anaëroben Bakterien fand sich nur noch eine Art runder Kokken, die sich durch ihre Größe und dadurch, daß sie die Gramsche Färbung nicht annahmen, von den Pneumokokken deutlich unterschieden. Die nach der dritten Anwendung von Kolynos geimpften Mäuse sind demnach nicht mehr wie die früheren an einer Pneumokokkeninfektion zugrunde gegangen, sondern an einer Infektion durch andere pathogene Keime. Nach der dritten Zahnreinigung mußten die Versuche leider auf einige Tage unterbrochen werden, weil der Vorrat an Kolynos erschöpft war. Nachdem frisches Versuchsmaterial eingetroffen war, wurden sie wieder aufgenommen. Zunächst wurde vor Anwendung von Kolynos Zahnschleim von der Versuchsperson auf 2 Mäuse verimpft, alsdann wurde die Person veranlaßt, 4mal im Laufe eines Tages je 5 Minuten lang die Zähne mit Kolynos zu bürsten. Darauf wurde wiederum Zahnschleim entnommen und auf 2 weiße Mäuse verimpft. Die ersten beiden Mäuse schienen vorübergehend etwas krank, sie erholten sich jedoch bald wieder vollständig. Die eine Maus ist 15 Tage später ohne besonderen bakteriologischen Befund zugrunde gegangen. Die andere ist ebenso wie die nach der Reinigung geimpften Mäuse dauernd gesund geblieben. Diese Versuche haben somit gelehrt, daß es möglich ist, selbst unter natürlichen Bedingungen in der Mundhöhle wuchernde Krankheitserreger durch regelmäßigen Gebrauch von Kolynos zu beseitigen. Dieses Ergebnis ist um so bemerkenswerter, als eingehende Untersuchungen gezeigt haben, daß selbst bei täglich mehrmals wiederholter energischer Anwendung von Kolynos ein nachteiliger Einfluß auf die Zähne oder die Mundschleimhaut nicht ausgeübt wird.

Von großem Interesse war es ferner, noch festzustellen, ähnlich wie dies auch Pelnár bei seinen Versuchen ausgeführt hatte, ob dem Präparat fäulnishemmende Eigenschaften innewohnten. Zu dem Behufe wurde Fleischwasser, das aus fein gehacktem Fleisch nach Abfiltrieren der gröberen Bestandteile bereitet war, mit 20, 10, 5, 3 und 1 Proz. Kolynos versetzt und zu je 20 ccm dieser Mischung $^1/_2$ ccm Stalljauche hinzugegeben. Eine Reihe von Flaschen mit Fleischwasser ohne Kolynos wurden zur Kontrolle in der gleichen Weise mit Jauche versetzt. Sämtliche Fäulnisgemische wurden alsdann 24 Stunden bei Bruttemperatur gehalten. Nach dieser Zeit zeigten die Kontrollproben sämtlich einen intensiven widerlichen Fäulnisgestank. Dieser Fäulnisgeruch war auch bei der 1-proz. Kolynosmischung noch leicht ausgesprochen, die 3- und 5-proz. Lösungen aber waren geruchlos und bei den stärkeren Konzentrationen konnte man nur den angenehm aromatischen Geruch des Präparates selbst feststellen. Nach 48-stündigem Aufenthalt im Brutschrank war das Resultat fast dasselbe geblieben, nur bei der 3 Proz. Kolynos enthaltenden Mischung machte sich ein leichter Fäulnisgeruch bemerkbar. Es war also gelungen, durch Zusatz von relativ geringen Mengen (3 bis 5 Proz.) des Präparates zu einem stark zersetzungsfähigen und intensiv mit Fäulniserregern versetzten Materiale die Fäulnis desselben für längere

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Zeit hintanzuhalten. Weiterhin wurde nun zu ermitteln versucht, ob es möglich sein würde, bereits in stinkender Fäulnis befindliche Flüssigkeit durch Kolynoszusatz vor weiterer Zersetzung zu bewahren. Deshalb wurden zu den in voller Fäulnis befindlichen Kontrollproben 20, 10 und 5 Proz. Kolynos hinzugesetzt und diese weiterhin bei Bruttemperatur stehen gelassen. Nach 24 Stunden bereits war der vor dem Kolynoszusatz äußerst starke Fäulnisgeruch in den 20 und 10 Proz. Kolynos enthaltenden Proben vollständig verschwunden, in der 5 Proz. enthaltenden wesentlich schwächer geworden. Vor und nach dem Zusatz von Kolynos vorgenommene Aussaaten der Faulflüssigkeit auf Nähragar ergaben, daß das Präparat eine Abnahme des Keimgehaltes in der Flüssigkeit herbeigeführt hatte. Hieraus ist zu schließen, daß das Verschwinden des Fäulnisgeruches nicht etwa lediglich auf einer Verdeckung durch den aromatischen Eigengeruch des Mittels zurückzuführen ist, sondern auf eine Entwickelungshemmung der den Geruch erzeugenden Fäulnisbakterien. Mit diesen, die fäulnishemmende Wirkung von Kolynos beweisenden Versuchen steht im Einklang die bei mehreren Personen gemachte Beobachtung, daß faulige Prozesse an kariösen Zähnen durch regelmäßige Anwendung von Kolynos behoben werden konnten.

Das Ergebnis der vorstehenden Untersuchungen kann dahin zusammengefaßt werden, daß Kolynos imstande ist, in kurzer Zeit Diphtheriebacillen, Streptokokken und Pneumokokken abzutöten, daß das Präparat seine desinfizierende Eigenschaft nicht nur im Reagensglase, sondern auch in der Mundhöhle des Menschen gegenüber den unter natürlichen Bedingungen stehenden Krankheitserregern zur Geltung bringt, und daß man mit demselben in der Lage ist, Fäulnisprozesse zu verhindern und bereits vorhandene einzuschränken. Das Mittel hat sich bei monatelangem Gebrauch als vollkommen unschädlich erwiesen, zudem ist seine Anwendungsweise eine sehr einfache und bequeme. Wegen aller dieser Eigenschaften ist Kolynos als ein für die Hygiene der Mundhöhle wertvolles Mittel zu erachten. Im Hinblick auf die energisch desinfizierende Wirkung, die Kolynos gegenüber den Pneumokokken und Streptokokken entfaltet, kann der Hoffnung Raum gegeben werden, daß durch regelmäßige Anwendung des Mittels bei Individuen, die an Krankheiten leiden, bei denen erfahrungsgemäß häufig Sekundärinfektionen von den Mund- und Rachenorganen ausgehen, diese Sekundärinfektionen verhindert oder wesentlich eingeschränkt werden. Ebenso dürfte zu erwarten sein in Anbetracht der starken Beeinflussung der Diphtheriebacillen durch Kolynos, daß durch regelmäßige Anwendung des Präparates die Diphtheriebacillen aus den Rachenorganen schneller beseitigt werden und daß es namentlich gelingen wird, diese Keime in der Mundhöhle und im Rachen solcher Individuen abzutöten, die als Dauerausscheider oder Bacillenträger sie längere Zeit beherbergen und dadurch eine ständige Gefahr für ihre Umgebung darstellen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Reduktion des Oxyhämoglobins und einiger anderer Stoffe durch Bakterien.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Universität Budapest (Direktor: Prof. H. Preisz).]

Von Dr. **L. v. Liebermann jun.**, Assistenten des Instituts.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß das Oxyhämoglobin einer Blutlösung nach mehr oder weniger langer Zeit in reduziertes Hämoglobin übergeht, meist binnen einigen Stunden oder Tagen. Dieser Vorgang erfolgt jedoch, wie die folgenden Ausführungen zeigen sollen, nicht spontan, sondern ist stets durch die Gegenwart von Bakterien bedingt, die selbstverständlich bei allen bisherigen Beobachtungen, da keine Veranlassung zum Arbeiten unter aseptischen Kautelen vorlag, immer zugegen waren. Wenn Bakterien vollkommen ausgeschlossen werden, so erfolgt, nach meinen bisherigen Beobachtungen selbst innerhalb einiger Monate, eine Reduktion des Oxyhämoglobins überhaupt nicht. Ich habe Blut, das aus der Ohrvene eines Kaninchens mit steriler Spritze entnommen wurde, in sterilem (und unmittelbar vorher zur Entfernung des gelösten Sauerstoffes nochmals aufgekochtem und abgekühltem), destilliertem Wasser gelöst, dann in ein sterilisiertes Glasröhrchen, das an beiden Enden zu Kapillaren ausgezogen war, aufgenommen, und das Röhrchen, ebenfalls unter absoluter Vermeidung von Luftzutritt, an beiden Enden zugeschmolzen. So aufbewahrt, zeigt die Blutlösung bis jetzt, nunmehr ein halbes Jahr lang, keine Spur von Reduktion; die ursprüngliche hellrote Farbe ist nur insofern verändert, als sie einen Stich ins Braune erhalten hat, und mittels Spektroskops ist neben den beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins der nach der roten Seite des Spektrums gelegene Streifen des Methämoglobins zu beobachten; letzterer jedoch viel schwächer als die beiden ersten. Es ist also das Oxyhämoglobin größtenteils unverändert geblieben, zum Teil in Methämoglobin verwandelt worden. In allen anderen Fällen, wo also der Zutritt von Bakterien nicht vermieden wurde, tritt die Reduktion nach verschieden langer Zeit ein, und zwar dann, wenn die Bakterien sich so weit vermehrt haben, daß in jedem zur Untersuchung entnommenen Tröpfchen der Flüssigkeit bereits zahlreiche Keime enthalten sind. Dasselbe ist zu beobachten, wenn nicht Blutlösung, sondern unverändertes Blut oder eine Aufschwemmung von Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung verwendet wird.

Im offenen Reagensglas gehalten, schlägt die hellrote Farbe der Lösung resp. Emulsion meist zuerst im unteren Teil ins Violette, d. h. in die Farbe des reduzierten Hämoglobins um; es erfolgt also, solange die Bakterien noch nicht in großer Menge vorhanden sind, stets eine neue Oxydation der obersten Schichten durch den Luftsauerstoff. Später, nach stärkerer Vermehrung der Keime, ist die Farbe der ganzen Lösung gleichmäßig rotviolett. Rascher als im offenen Gefäß erfolgt der Farbenwechsel, wenn die bakterienhaltige Flüssigkeit unter Luftabschluß aufbewahrt wird.

Die reduzierende Wirkung der Bakterien und anderer pflanzlicher Mikroorganismen ist eine seit langem bekannte und studierte Erscheinung, doch wurden bisher zu ihrem Nachweis nur organische Farbstoffe und zwei anorganische Salze, das Natriumselenit und -tellurit, verwendet, nicht aber der Blutfarbstoff. Nun schien mir aber eine Untersuchung des Verhaltens der Bakterien dem Blutfarbstoff gegenüber nicht nur zum Vergleich mit anderen reduzierbaren Substanzen interessant, sondern auch besonders aus dem Grunde, weil ich annahm, daß eine derartige Wirkung der Bakterien auf den Blutfarbstoff innerhalb des Organismus in bezug auf den Gasaustausch, also die Atmungstätigkeit der Gewebe, nicht gleichgültig sein kann.

Um festzustellen, ob die Reduktion des Hämoglobins eine allgemeine Eigenschaft der Bakterien ist, untersuchte ich eine Anzahl Bakterien und höhere pflanzliche Mikroorganismen auf ihr Vermögen, das Oxyhämoglobin zu reduzieren, wobei ich Gewicht darauf legte, Vertreter der verschiedensten Arten einzustellen. Es wurden Bouillonkulturen, ferner Aufschwemmungen von Agar- und Kartoffelkulturen in physiologischer Kochsalzlösung mit einer ca. 4-proz. Lösung von Rinder- oder Pferdeblutkörperchen in destilliertem Wasser, ferner mit einer ebensolchen Aufschwemmung von Blutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung zu gleichen Teilen zusammengebracht. Als Kontrolle diente dieselbe Blutlösung resp. Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung bezw. Bouillon. Die Reduktion zeigt sich durch das Umschlagen der hellroten Farbe in Rotviolett an, noch genauer kann sie mit dem Spektroskop festgestellt werden, insbesondere, wenn es sich darum handelt, zu beobachten, ob bereits alles Oxyhämoglobin reduziert ist. Da nämlich das Oxyhämoglobin zwei schmale Absorptionsstreifen zeigt, deren erster (näher zum roten Teil des Spektrums gelegen) in der Nähe der Linie D (etwa der Wellenlänge 580 $\mu\mu$ entsprechend) beginnt, und der zweite, breitere, bei der Linie E (527 $\mu\mu$) endet, der einzige, breite Streifen des reduzierten Hämoglobins aber sich von etwa 595—540 $\mu\mu$ erstreckt, im ganzen also etwas nach der roten Seite des Spektrums verschoben ist, so wird er in einem Gemisch von Oxyhämoglobin und reduziertem Hämoglobin vom zweiten Streifen des ersteren bis zur Linie E überragt und überragt andererseits den ersten Streifen des Oxyhämoglobins gegen die rote Seite des Spektrums. Es ist also ein derartiges Gemisch, d. h. eine unvollständige Reduktion, leicht zu erkennen, wenn das Spektroskop eine Vorrichtung zur Einstellung eines Kontrollspektrums von Oxyhämoglobin besitzt. Zu solchen spektroskopischen Untersuchungen ist es zweckmäßig, die Flüssigkeit in einer flachen Glaskuvette unterzubringen, oder mit verdünnteren Blutlösungen als die oben angegebene zu arbeiten.

Auf diese Weise untersuchte ich das Reduktionsvermögen folgender Mikroorganismen: Bac. anthracis, typhi, coli communis, prodigiosus, diphtheriae, dysenteriae, bipolaris septicus, murisepticus, polymorphus, pyocyaneus, fluorescens liquefaciens, cyanogenes, capsulatus gliricida, proteus vulgaris, tuberculosis hominis, tuberc. bovis, Staphylococcus pyog. aureus, Streptococcus pyog., Streptococcus acidi lactici, Micrococcus cinnabaricus, Nitrobact. Winogradsky; von Anaëroben: Bac. tetani, botulinus van Ermengem und Bradsotbacillus. Ferner von höheren Pilzen: Actinomyces hominis (Berestnew), Actinomyces Affanassiew, Saccharomyces cerevisiae und eine Art von Penicillium.

Sämtliche angeführte Mikroorganismen zeigten (teils in Bouillonkultur, teils als Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung) in der oben angegebenen Weise mit Blutlösung oder Blutkörperchen-Aufschwemmung zusammengebracht, die reduzierende Wirkung. Eine Ausnahme hiervon war nicht zu finden. Die Zeitdauer, die zur vollständigen Reduktion nötig ist, hängt vor allem von der Menge der Bakterien ab; sie beträgt z. B. bei einer 24 Stunden alten Bouillonkultur von Bac. coli comm., zu gleichen Teilen mit der oben angegebenen Blutlösung vermischt, 10—15 Minuten. Andererseits ist sie bei verschiedenen Bakterienarten sehr verschieden. Von bedeutendem Einfluß ist die Temperatur. Ich fand, in Uebereinstimmung mit den bisherigen Beobachtungen, daß der Reduktionsprozeß bei Brüttemperatur stets rascher erfolgt als bei Zimmertemperatur, und zwar ist im letzteren Falle etwa die 2—3-fache Zeit zur vollständigen Reduktion notwendig. Es ist dies auch bei solchen Bakterien der Fall, deren Temperaturoptimum für die Fortpflanzung nicht bei Bruttemperatur, sondern niedriger liegt. Die längste Zeit beanspruchen von den untersuchten Arten die Tuberkelbacillen (als kürzeste Zeit beobachtete ich hier 3 Stunden). Dieser Umstand könnte damit erklärt resp. in Zusammenhang gebracht werden, daß diese Bakterien sich auch bezüglich anderer Lebensfunktionen (Reproduktionstätigkeit) träge verhalten. Daß nämlich nicht die geringe Oberfläche der massiven Bacillenkonglomerate die Ursache dieser Erscheinung ist, läßt sich damit zeigen, daß die Reaktion auch dann nicht rascher verläuft, wenn man die Bakterienmassen zu einer feinen Emulsion verteilt.

Solche Proben, in denen die Reduktion langsam vonstatten geht, zeigen dann, wenn Luft darüber vorhanden ist, d. h. in offenem Röhrchen, die Erscheinung der Reduktion nur im unteren Teile der Flüssigkeit, da die oberen Schichten immer wieder Sauerstoff aufnehmen können. Ueberhaupt ist eine Reoxydation des reduzierten Hämoglobins in sämtlichen Fällen bei Anwesenheit von Luft durch energisches Schütteln der Proben immer, und, wie es scheint, beliebig oft möglich, es wiederholt sich dann stets die Reduktion innerhalb derselben Zeit. Nur bei den Anaëroben kann der Reduktionsprozeß nicht oft wiederholt werden; nach 1—2-maligem Durchschütteln tritt keine abermalige Reduktion ein, außer wenn dann die Probe bei Luftabschluß aufbewahrt wird; es erfolgt also hier anscheinend eine Sättigung der Bakterien mit Sauerstoff viel rascher als bei den Aëroben.

Beim Arbeiten mit Anaërobenkulturen ist auf die Reaktion der Bouillonkultur stets zu achten, da dieselben Säure bilden, das Oxyhämoglobin aber in saurem Medium nicht reduziert, sondern in Methämoglobin verwandelt wird. Es müssen deshalb solche Kulturen vorher genau neutralisiert werden. Dasselbe gilt auch von allen anderen säurebildenden Bakterien.

Die sporenbildenden Anaëroben erwiesen sich übrigens als geeignetes Material zur Untersuchung der Frage, ob das Reduktionsvermögen nur den vegetativen Formen oder auch den Sporen zukommt. Es wurden daraufhin einerseits junge, sporenlose oder wenig Sporen enthaltende Bouillonkulturen der drei erwähnten Anaëroben, andererseits reine Sporenkonglomerate von B. botulinus und Bradsotbacillus untersucht, letztere setzen sich in Bouillonkulturen nach einigen Tagen als harte, kompakte Massen zu Boden, können leicht durch Waschen gereinigt und zu Emulsionen verrieben werden, und enthalten überhaupt keine vegetativen Formen, sondern nur Sporen. Das Resultat war das erwartete: während die bakterienhaltigen Kulturflüssigkeiten lebhafte Reduktion zeigten, war eine solche bei den aus denselben Kulturen stammenden Sporenemulsionen nicht wahrzunehmen, auch nach längerem Stehen nicht. Es ist also auch diese Lebenserscheinung bei den Dauerformen der Bakterien aufgehoben.

Hiermit steht jene vielumstrittene Frage in engem Zusammenhang, ob das Reduktionsvermögen eine Eigenschaft der lebenden Bakterienzelle selbst ist, oder ob es gewissen Stoffwechselprodukten der Bakterien zukommt. In einer jüngst erschienenen Arbeit über die Reduktionserscheinungen der Bakterien gibt Carapelle[1]) eine Uebersicht über die hierüber bisher ausgesprochenen Ansichten, und erwähnt einerseits die Arbeiten von Spina, Cahen, Smith, Klett, Cathcart und Hahn, sowie Maassen, die das Reduktionsvermögen ausschließlich dem Bakterienkörper zuschreiben, andererseits jene von Baginsky, Rózsahegyi, Müller und Wolff[2]), die sie auf Stoffwechselprodukte zurückführen.

Zur Entscheidung dieser Frage dienten einerseits Kulturversuche in Nährböden, welchen reduzierbare Substanzen beigemischt wurden, derart, daß die reduzierbare Substanz (basische Anilinfarbstoffe) infolge der Reduktion entfärbt wurde; andererseits reduzierbare farblose Salze (Natriumselenit und -tellurit), aus denen durch Reduktion Selen resp. Tellur, ersteres als roter, letzteres als schwarzer Niederschlag abgespalten wird. Hierbei zeigt sich vor allem, daß sich diese beiden Arten von reduzierbaren Verbindungen verschieden verhalten, indem bei Verwendung von Anilinfarben (besonders Methylenblau) in Stichkulturen die Reduktion nicht nur an den Stellen der Bakterienkolonieen, sondern auch in entfernten Teilen des Nährbodens, ja sogar alsbald im ganzen Nährboden erfolgt, bis auf die oberste Schicht, die aus der Luft immer neuen Sauerstoff erhält; im Selenit-Nährboden hingegen bleibt die Reduktion auf die Stellen des Nährbodens beschränkt, die mit den Kolonieen in unmittelbarer Berührung stehen. Das verschiedene Verhalten dieser beiden Arten von Verbindungen macht es notwendig, den fraglichen Prozeß mit beiden getrennt genauer zu untersuchen. Da die meisten Forscher mit den basischen Anilinfarbstoffen gearbeitet haben, zumeist mit Methylenblau, so wollen wir zuerst die Ergebnisse dieser Untersuchungen berücksichtigen. Es wurde mit diesen Farbstoffen (außer den bereits oben erwähnten Kulturversuchen mit festen Nährböden) das Reduktionsvermögen verschieden behandelter flüssiger Kulturen und Bakterienaufschwemmungen untersucht, und zwar wurden zu diesem Zweck verschiedene Wege eingeschlagen: 1) Abtöten der Kultur (Spina und Rothberger), 2) Filtrieren der Kultur (Smith, Carapelle), 3) Entfernen der Bakterien aus der Kulturflüssigkeit durch Zentrifugieren (Carapelle). Die so behandelten Proben wurden dann auf ihr Verhalten gegenüber den erwähnten Farbstoffen geprüft.

Ich verfuhr auf dieselbe Weise mit Blutlösung und fand in vollkommener Uebereinstimmung mit den erwähnten Autoren, daß weder abgetötete Kulturen (10 Minuten im Dampfstrom sterilisiert), noch Filtrate von Kulturen — es wurden, um möglichst viel Bakterienprodukte zu erhalten, auch ältere, bis zu mehreren Wochen alte Kulturen verwendet — noch auch die von den abzentrifugierten Bakterien abgehobene Flüssigkeit eine reduzierende Wirkung erkennen ließen.

Diese Versuche schienen dafür zu sprechen, daß bei der Reduktion die Wirkung von Bakterienprodukten auszuschließen und das Reduktions-

---

1) Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. Orig. Bd. 47. p. 545.

2) Sämtlich zitiert bei Carapelle.

vermögen allein den lebenden Bakterienzellen zuzuschreiben wäre. Was die Kritik dieser drei Methoden anbelangt, so wurde gegen die erste (Abtöten der Kultur) von ihrem Autor (Spina) selbst der Einwand erhoben, daß die Erwärmung vielleicht auch die wirksamen Produkte verändert. Gegen die Filtrationsmethode erhebt Carapelle den Einwand, daß durch die innige Berührung mit Luft die reduzierende Wirkung der betreffenden Verbindungen durch Oxydation vernichtet werden kann. Ferner äußert er sich über den Wert seiner eigenen Methode, nämlich die Untersuchung des Reduktionsvermögens der von den abzentrifugierten Bakterien abgehobenen Flüssigkeit in dem Sinne, daß dieser Versuch weiter nichts beweist als daß, falls die Reduktion durch ein ausgeschiedenes Produkt der Bakterien verursacht wird, diese Substanz jedenfalls so unbeständig ist, daß sie nach dem Ausscheiden der Bakterien aus der Flüssigkeit nicht mehr nachgewiesen werden kann. Mit anderen Worten, es liefern alle diese Versuche weder für noch gegen die Existenz einer derartigen Substanz einen Beweis. Der genannte Autor griff daher wieder auf die Untersuchung diffusibler reduzierender Substanzen in festen (z. T. auch in flüssigen) Nährböden während der Entwickelung der Kultur zurück, jedoch gegenüber der bisherigen Methode mit dem Unterschiede, daß die Kultur selbst von jenem Teile des Nährbodens, der die reduzierbare Substanz (Methylenblau oder Selenit) enthielt, durch eine Kollodiummembran oder eine zwischengeschaltete Agarschicht getrennt war. Da jedoch in all diesen Fällen die reduzierbare Substanz zum Teil auch in die übrigen Partieen des Nährbodens übergehen kann (und in den erwähnten Versuchen auch nachgewiesenermaßen überging), so konnten die Versuche im wesentlichen kein anderes Ergebnis liefern, als die bisherigen Versuche mit Methylenblau einerseits und mit Selenit andererseits, d. h. sie ließen es sehr wahrscheinlich erscheinen, daß sowohl eine ausgeschiedene Substanz wie auch die Bakterienzellen selbst an der Wirkung beteiligt sind. Wie im folgenden gezeigt werden soll, läßt sich für diese Annahme der sichere Nachweis in sehr einfacher Weise erbringen.

Zuerst trachtete ich den obenerwähnten Zentrifugierungsversuch derart zu erweitern, daß der Fehler, den die als wahrscheinlich angenommene Unbeständigkeit der ausgeschiedenen Substanz verursacht, ausgeschaltet werde, und zwar auf folgende Art. Erstens vermied ich selbst das Absaugen der Flüssigkeit von den Bakterien, indem ich die letzteren nur abzentrifugierte, oder — (hierzu sind außer Milzbrandbacillen besonders Bouillonkulturen von Streptothrix-Arten sowie von Schimmelpilzen geeignet, da sie größere Fadenkonglomerate bilden) spontan zu Boden sinken ließ, und beobachtete, wieweit die Reduktion nach oben reicht. Den Versuch habe ich mit Blutlösung und mit Methylenblau ausgeführt, und fand stets, daß der Reduktionsprozeß genau auf die Schicht der Bakterien resp. Pilze beschränkt blieb und auf die darüberstehende Flüssigkeit niemals übergegriffen hatte. Wenn nun diese Erscheinung wiederum nur durch die Unbeständigkeit der ausgeschiedenen reduzierenden Substanz bedingt war, indem sie von der darüberstehenden Flüssigkeit, die ihrerseits wieder aus der Luft stets Sauerstoff zugeführt erhielt, sofort oxydiert wurde, so mußte notwendigerweise nach einiger Zeit die ganze Flüssigkeit reduziert werden, wenn die Luftzufuhr vermieden wurde. Das ist denn auch der Fall. Ich habe in zwei mit etwas Methylenblau

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

versetzte Bouillonproben etwas Milzbrandkultur gebracht, und die eine nur wie gewöhnlich mit Watte verschlossen, den Wattestopfen der anderen aber nach Art der Anaërobenkulturen mit alkalischer Pyrogallollösung getränkt und versiegelt. Derart aufbewahrt, war nach 24 Stunden auch die über dem Bakterienbodensatz stehende klare Flüssigkeit entfärbt, während sie in der offenen Probe ihre Farbe behielt. Zu bemerken ist, daß sterile Methylenblaubouillon durch derartige Absorption des Sauerstoffes überhaupt nicht beeinflußt wird.

Es bleibt noch zu überlegen, ob die Flüssigkeit, deren Moleküle ja in fortwährender Bewegung sind, nicht dadurch reduziert wird, daß die gelösten Moleküle nacheinander alle in direkten Kontakt mit den Bakterien kommen und nicht durch eine in der Flüssigkeit gelöste Substanz reduziert werden. Dies wäre wohl möglich, doch sprechen die Versuche mit festen Nährböden dagegen, denn hier kann ein Austausch der reduzierten und nichtreduzierten Moleküle keineswegs so rasch erfolgen, wie sich die vollständige Reduktion des ganzen Farbstoffes im Nährboden vollzieht. Wenn man nämlich eine mit Methylenblau versetzte Agarschicht nach dem Erstarren mit reinem Agar überschichtet, so kann man beobachten, wie langsam der Farbstoff in die obere Schicht diffundiert; die letztere erscheint auch nach mehreren Tagen erst schwach gefärbt, während in einer Kontrollprobe, wo in Methylenblauagar eine Stichkultur bis zu halber Tiefe angelegt wurde, schon nach 24 Stunden die ganze Kultur mit Ausnahme der obersten, der Luft zugänglichen Schicht entfärbt ist.

Dieselben Resultate wie mit Flüssigkeitskulturen erhielt ich in einer womöglich noch mehr überzeugenden Weise mit Methylenblauhaltigen Schrägagarkulturen bei Zutritt und Abwesenheit von Luftsauerstoff. Methylenblau-Schrägagarkulturen zeigen, wenn die Kultur in der üblichen Weise nur mit Watte verschlossen ist, überhaupt keine Reduktion. Nach Absorption des Sauerstoffes durch Pyrogallol, nach Art der Anaërobenkulturen aber wird der Nährboden, auch wenn sich die Kultur nur auf einem geringen Teil seiner Oberfläche befindet, binnen kurzer Zeit (ca. 12 Stunden) vollständig entfärbt[1]. Es kann also offenbar die von den Bakterien produzierte reduzierende Substanz bei Luftzutritt nicht zur Wirkung gelangen, da sie sofort oxydiert wird, während bei Sauerstoffabwesenheit ihre Wirkung sofort klar zutage tritt. Damit ist der Beweis für die Existenz der von Carapelle vermuteten, sehr leicht oxydierbaren, löslichen reduzierenden Substanz, die sich in den oben angeführten Versuchen dem Nachweis entzog, in unzweideutiger Weise erbracht.

Wenn somit hinsichtlich der Existenz von aus den Bakterien ausgeschiedenen, löslichen reduzierbaren Substanzen kein Zweifel mehr möglich ist, so schließt der Nachweis derselben einen direkten Sauerstoffverbrauch der Bakterienzellen in Gestalt einer Atmungstätigkeit oder eine Reduktion von Stoffen, die in die Zelle aufgenommen werden, keineswegs aus. Im Gegenteil, die Erscheinungen, die an Kulturen mit Klettschen Selenit- und Telluritnährböden zu beobachten sind, können anders als durch die Annahme derartiger Vorgänge kaum erklärt werden.

Wie erwähnt, werden Selenit- und Telluritnährböden durch Stichkulturen nicht in toto reduziert, sondern die Reduktion bleibt auf den

---

[1] Ebenso wie bei den Bouillonversuchen, wurde auch hier eine eventuelle Reduktionswirkung des Nährbodens selbst durch Kontrollen ausgeschlossen. Es mag wohl Nährböden geben, die diese Eigenschaft haben; die meinigen zeigten sie niemals.

Stichkanal, also die Stelle der Kultur selbst, beschränkt. Dasselbe Verhalten beobachtete ich in Schrägagarkulturen bei Absorption des Sauerstoffes, die in der bei den Methylenblauversuchen angegebenen Weise hergestellt wurden. Es sind also jene gelösten Substanzen, die das Methylenblau in den entfernten Teilen des Nährbodens reduzieren, dem Selenit und Tellurit gegenüber wirkungslos. Hingegen erfolgt hier innerhalb der Kolonieen auch bei Luftzutritt eine Reduktion in Form von Ausscheidung des Selens resp. Tellurs in Körnchen, die teils in den Bakterienzellen, teils zwischen denselben wahrnehmbar sind (Klett). Daß hier der Reduktionsprozeß auch bei Luftzutritt wahrnehmbar ist, ist ohne weiteres erklärlich, wenn man bedenkt, daß Selenit und Tellurit keine sogenannten Küpen sind, wie die basischen Anilinfarbstoffe, sondern daß das einmal abgespaltene Selen resp. Tellur einer Reoxydation durch Luftsauerstoff nicht mehr fähig ist. Im gegenseitigen Verhalten des Selenit- und Telluritnährbodens ist insofern ein Unterschied zu bemerken, daß die Tellurkolonieen spurlos von der Oberfläche entfernt werden können, während die Selenkolonieen einen, genau ihrem Umfang entsprechenden, roten Fleck zurücklassen, der sich auf die oberflächlichste Schicht des Nährbodens beschränkt. Jedenfalls erfolgt hier wie dort die Reduktion nur in unmittelbarem Kontakt mit den Bakterien — ob innerhalb derselben, entzieht sich unserer Beurteilung, denn die Selen- und Tellurkörnchen können auch nachträglich aufgenommen worden sein — und ist von der oben behandelten Fernwirkung qualitativ verschieden.

Mit dem Nachweis dieser beiden verschiedenen Arten von Reduktionswirkung erlischt jener Widerspruch, der durch die verschiedenen Untersuchungsmethoden in der Beurteilung der Frage entstanden ist.

* * *

Wie bereits anfangs erwähnt, kann eine derartig kräftige reduzierende Wirkung, wie sie die Bakterien zeigen, innerhalb des Organismus nicht gleichgültig sein, außer es würden die Gewebe eine unverhältnismäßig größere Avidität für Sauerstoff besitzen als die Bakterien. Das letztere Verhältnis zahlenmäßig zu bestimmen, dürfte wohl kaum möglich sein, doch glaube ich immerhin einigen in dieser Richtung ausgeführten, orientierenden Versuchen einigen Wert beilegen zu dürfen. Ich verglich zuerst die Intensität der Blutreduktion durch Bakterien mit jener durch tierische Zellen in vitro. Als letztere wurden verwendet: Exsudatzellen eines mit Aleuronat erzeugten Pleuralexsudates vom Kaninchen, ferner Emulsionen von zerriebenem Lymphdrüsen-, Milz-, Leber- und Nierengewebe desselben Tieres, sämtlich frisch dem Tierkörper entnommen. Bei all diesen Proben war entweder gar keine oder höchstens nach mehreren Stunden eine sehr geringe Reduktion wahrzunehmen. Trotzdem das Material möglichst frisch verwendet wurde und ich ferner auch mikroskopisch untersuchte, ob intakte, nicht zertrümmerte Zellen reichlich vorhanden waren, was stets der Fall war, so kann doch der Einwand bestehen, daß die Zellen vielleicht schon abgestorben waren (obzwar andererseits frische Exsudatzellen zu phagocytischen Untersuchungen sich stets geeignet erweisen). Ich halte deshalb einen im Tierkörper selbst ausgeführten Versuch für wertvoller. Ich injizierte einem Kaninchen eine konzentrierte Blutkörperchensuspension in die vordere Augenkammer, einem anderen Kaninchen ebensoviel Blutkörperchen, gemischt mit

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

etwas Proteus-Kultur. Beim ersten Kaninchen war die Reduktion des Blutes erst nach 1/2 Stunde erkennbar, beim zweiten schon nach 5 Minuten. Es haben also die Bakterien den Sauerstoff vom Blut viel rascher abgespalten, als es die Gewebe vermögen; es kann also, falls es sich hierbei um den zur Ernährung der Gewebe notwendigen Sauerstoff handelt, eine Schädigung der Gewebe erfolgen. Versuche, die ich zur Untersuchung dieses Verhaltens mit intravenöser Injektion großer Mengen von nichtpathogenen Bakterien angestellt habe, ergaben bisher noch kein eindeutiges Resultat. Ein weiterer direkter Beweis hierfür wäre vielleicht auch durch Bestimmung der Blutgase bei Ueberschwemmung des Blutes mit Bakterien zu erzielen; auf spektroskopischem Wege gelang mir der Nachweis einer stärkeren Reduktion des Oxyhämoglobins nach intravenöser Injektion von Bakterien nicht, da ich auch bei spektroskopischer Untersuchung des venösen Blutes, mit möglichstem Ausschluß von Luft aus der Vene entnommen und in Wasser gelöst, stets das Spektrum des Oxyhämoglobins erhielt; es scheint, daß die selbst im ausgekochten Wasser enthaltenen Spuren von Sauerstoff genügen, um die zur Verwendung kommenden geringen Hämoglobinmengen zu oxydieren.

Zusammenfassung.

1) Das Oxyhämoglobin des Blutes wird spontan, ohne Bakterienzutritt, nicht reduziert, sondern bleibt lange unverändert, und geht dann teilweise in Methämoglobin über.

2) Sämtliche untersuchten Bakterien und höheren Pilze reduzieren das Oxyhämoglobin.

3) Die untersuchten Mikroorganismen zeigen die reduzierende Wirkung nur im lebenden Zustand.

4) Sporen reduzieren nicht, nur die vegetativen Formen.

5) Außer den Bakterienzellen selbst ist an der Reduktionswirkung auch eine von denselben ausgeschiedene lösliche Substanz beteiligt; dieselbe ist sehr unbeständig und kann daher nur nachgewiesen werden, wenn der Luftzutritt vermieden wird.

6) Aufschwemmungen von Exsudat- und Gewebszellen reduzieren viel weniger energisch als Bakterien.

7) In die vordere Augenkammer injiziertes Blut wird bei gleichzeitiger Anwesenheit von Bakterien viel rascher reduziert als ohne Bakterien; die Bakterien reduzieren also stärker als gewisse lebende Gewebe.

Zum Schluß sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. Preisz, für die wertvolle Unterstützung, die er meiner Arbeit angedeihen ließ, meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Budapest, 24. Mai 1909.

Nachdruck verboten.

Schlussbemerkungen zur „Antwort“ des Herrn Dr. B. Lipschütz, die bei Wut gefundenen kleinsten Körperchen betreffend.

Von Prof. **V. Babes.**

In Erwiderung auf die „Antwort“ des Herrn Dr. Lipschütz (dieses Centralbl. Heft 2. 15. Mai 1909) sei es mir gestattet, einige Angaben dieses Autors zu berichtigen.

1) Zunächst muß ich bemerken, daß es nicht angeht, wie es Herr Lipschütz tut, so feine Gebilde, wie die von mir bei Lyssa gefundenen, nach den Abbildungen in Lithographie zu beurteilen. Die Lithographie ist eben nicht imstande, dieselben genau wiederzugeben und hat bloß den Zweck, die Anzahl und die Topographie derselben zu markieren.

2) Wenn ich Befunde, welche ich vor 12 Jahren erhoben habe, zitiere, so ist dies wohl kein Grund, dieselben zu beanstanden; dieselben zeigten jedenfalls, daß bei Wut in gewissen entarteten Nervenzellen kleinste, von einem Hofe umgebene, mittels Beize darstellbare Körperchen liegen, welche ich dann wiederholt mit den nach Giemsa und Cajal gefärbten identifizieren konnte. Weder damals war ich in der Lage, noch bin ich es heute, die von mir gefundenen Gebilde als die Parasiten der Wut anzusprechen. — Wenn ich gesagt habe, daß die Körperchen hyalin erscheinen, so heißt dies doch nicht, daß ich behauptet hätte, dieselben seien hyaline Degenerationsprodukte! Es ist demnach unexakt, wenn Herr Prof. Lipschütz behauptet, ich hätte dieselben als Degenerationserscheinungen gedeutet.

Wohl aber gelangte ich nach zahlreichen, wiederholten Untersuchungen zu der Vermutung, daß in der Tat gewisse feinste, nach Beizung nach Giemsa und Cajal-Giemsa darstellbare Körperchen in kausalem Zusammenhang mit der Wutkrankheit stehen könnten, und glaube ich, daß dieselben in diesem Falle der Gruppe der Chlamydozoen Prowazeks angehören dürften, wie dies ja auch Prowazek auf Grund meiner Befunde annimmt.

3) Ich muß daran festhalten, daß die Untersuchung des Zentralnervensystems an Ausstrichpräparaten zum Zwecke der Auffindung von so kleinen und so schwer darstellbaren Gebilden, sowie zur Beurteilung der Rolle derselben aus den in meiner ersten Mitteilung angeführten Gründen eine minderwertigere Methode darstellt, als die sorgfältige Anfertigung von Schnitten, welche in meinem Falle das Verhältnis dieser Gebilde zum Gewebe deutlich erkennen lassen.

Natürlich ist es ganz unzulässig, wenn Herr Lipschütz diese meine Behauptung mit der Aufzählung von Resultaten, welche mittels der Ausstrichmethode gewonnen wurden, widerlegen will. Gewisse Parasiten konnte man überhaupt bisher in Schnitten nicht darstellen, und muß man sich demnach zur Darstellung derselben einstweilen mit dieser Methode begnügen, aber das beweist ja nicht, daß im Momente, wo es gelingt, die betreffenden Gebilde in guten Schnitten in ihrer Beziehung zu den Geweben zu erkennen, wie mir dies gelang, diese letztere Methode nicht vollkommener ist.

Natürlich habe ich Hunderte von Ausstrichpräparaten des Nervensystems bei Lyssa systematisch untersucht; wenn ich hierbei zu keinen guten Resultaten gelangt bin, wohl aber an Schnittpräparaten, so beweist dies nur, daß in unserem Falle besonders im veränderten Zentralnervensystem die Beurteilung der Befunde an Ausstrichen schwieriger ist, als an Schnittpräparaten, so daß wir besser an letzteren zum Ziele kommen.

4) Es ist unexakt, wenn Herr Dr. Lipschütz in seiner ersten Mitteilung behauptet, ich hätte kleinste, von einem hellen Hof umgebene Körperchen in den entarteten Nervenzellen bloß nach Ramón-Cajal-Giemsa gefärbt.

In meiner Abhandlung in Zeitschr. f. Hyg. Bd. 56. 1907. p. 445 sage ich: „So erkennt man an Präparaten, welche nach Romanowsky oder Giemsa (also nicht nach Ramón y Cajal!) intensiv gefärbt werden, bei starker Vergrößerung, z. B. mittels Hartglasapochrom. Reichert 2 mm und Apochr. Okul. 8 im Cytoplasma entarteter Zellen derartige Körnchen schwärzlich, bläulich oder grünlich gefärbt.“ — In dieser Abhandlung erwähne ich auch meine Mitteilung an die rumänische Akademie aus dem Jahre 1904 über Darstellung auch nach Beizung der färbbaren feinsten Körnchen in den entarteten Nervenzellen, welche zum Teil in ursächlichem Zusammenhang mit der Wut zu sein scheinen.

Es ist demnach falsch, wenn Herr Dr. Lipschütz behauptet, 1) ich hätte die Körnchen als Degenerationsprodukte betrachtet, 2) ich hätte in der neuen Arbeit von 1907 keine Andeutungen über seit 12 Jahren wieder vorgenommene gelungene Färbungen gemacht, oder endlich, 3) ich hätte die Körperchen nur nach Cajal-Giemsa, nicht aber nach Giemsa allein gefärbt.

5) Indem Herr Lipschütz sich jetzt endlich überzeugt hat, daß ich kleinste Granula von einer hellen Zone umgeben im Innern entarteter Nervenzellen bei Wut beschrieben habe, welche sich allein nach Giemsa, oder aber in gebeizten Präparaten und endlich auch nach Ramón y Cajal und Giemsa färben, sucht derselbe noch eine letzte Ausflucht, um seine frühere falsche Behauptung, daß ich die Körnchen nur nach Cajal gefärbt hätte, zu stützen, indem er behauptet, ich hätte den Beweis der Identität dieser Körperchen nicht erbracht. Dies ist eine ganz willkürliche Behauptung, denn es ist doch natürlich und braucht nicht speziell betont zu werden, daß ich mich davon überzeugt habe, daß ich dieselben Körperchen gefärbt habe, was ja gar keine Schwierigkeiten darbietet. Da ich in zahlreichen Fällen dieselben Präparate mit diesen verschiedenen Methoden gefärbt und in derselben Schnittreihe die Körnchen gesehen habe, welche dieselbe Lokalisation, dieselbe Größe, dieselbe Anordnung, dieselbe blasse Zone aufwiesen, habe ich doch alles getan, was zu ihrer Identifizierung nötig ist. Uebrigens habe ich noch betont, daß auch nach Cajal-Giemsa diese Gebilde oft blau gefärbt erscheinen, wie bei der einfachen Giemsa-Färbung, und daß sie im Innern der ähnlich entarteten Nervenzellen liegen. — Es sind dies selbstverständliche Dinge, und ist es demnach nicht gerechtfertigt, den Anschein erwecken zu wollen, als ob ich irgendeinen wichtigen Punkt, „den wichtigsten“, in meiner Beweisführung vernachlässigt hätte.

6) Der Einwand des Herrn Dr. Lipschütz ist unhaltbar, daß die Methode von Ramón y Cajal wohl die Syphilisspirochäte, nicht aber kleinste Mikroorganismen zur Darstellung bringen kann.

Es ist dies eine durch nichts begründete Annahme, denn die feinen Enden der Spirochäte sind nicht dicker als die von mir beschriebenen Gebilde, und werden doch mittels der Cajal-Giemsaschen (Levaditischen) Methode schön gefärbt.

Bei so neuen und wenig studierten Gebilden ist es überhaupt nicht geraten, ohne vorherige Versuche zu behaupten, daß dieselben durch diese oder jene Methode nicht dargestellt werden können.

Ich muß demnach meine frühere Behauptung aufrecht erhalten, daß ich die von mir bei Lyssa in gewissen entarteten Nervenzellen beschriebenen Gebilde öfters auch durch Beizung, sowie nach Giemsa allein darstellen konnte, ferner daß es überzeugender ist, wenn man diese Gebilde in guten Schnittpräparaten des Zentralnervensystems in ihrer Beziehung zu den Geweben darstellen kann, als in Deckglasausstrichen.

Hiermit erachte ich meinerseits die Diskussion für abgeschlossen, indem es müßig erscheint, gegen wiederholte inexakte Angaben, welche ja jeder aufmerksame Leser meiner Mitteilungen berichtigen kann, anzukämpfen.

Nachdruck verboten.

Das Geflügeltuberkulin als diagnostisches Mittel bei der chronischen pseudotuberkulösen Darmentzündung des Rindes (Johnes disease).

[Arbeit aus dem Laboratorium des Prof. B. Bang.]

Von **O. Bang,** Tierarzt,
Assistent an der Kgl. tierärztlichen und landwirtschaftlichen Hochschule
zu Kopenhagen.

Die chronische pseudotuberkulöse Darmentzündung des Rindes wird bekanntlich durch einen säurefesten Bacillus erregt, der dem Tuberkelbacillus äußerst ähnlich ist, indem er sich ganz wie dieser färbt; die mikroskopische Untersuchung ergibt gewöhnlich, daß er etwas kleiner als der Tuberkelbacillus ist, doch ist dies nicht ganz konstant.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen, die der Bacillus verursacht, sind ausschließlich an den Darmkanal und die Gekrösdrüsen gebunden. Im Darmkanal erregt der Bacillus eine diffuse Verdickung der Schleimhaut, oft auch eine solche der Submucosa; gewöhnlich sind die Veränderungen am stärksten ausgesprochen im hinteren Teile des Dünndarms, in ausgeprägten Fällen ist der Darmkanal zuweilen in seinem ganzen Verlauf angegriffen, so daß man in einem mittels des Nagels aus dem Enddarm herausgeholten Schleimhautstückchen die Bacillen nachweisen und mithin noch bei Lebzeiten des Tieres die Diagnose mit absoluter Sicherheit stellen kann. Andererseits können die Tiere, selbst wenn sie sich in klinischer Beziehung als äußerst heftig angegriffen erweisen, bei der Sektion höchst unerhebliche pathologisch-anatomische Veränderungen des Darmkanals darbieten, so daß man erst durch sehr sorgfältige Untersuchung des Darmes, mitunter erst durch Untersuchung von gehärteten und in Paraffin eingebetteten Stückchen des Darmes an Schnitten nachzuweisen vermag, daß das Tier von der

Seuche angegriffen war. Nie kommt es zu Ulzerationsbildungen oder zur Bildung käsiger oder verkalkter Prozesse im Darm; die Gekrösdrüsen sind meistens ein wenig angeschwollen und an der Schnittfläche feucht; sonst sind die makroskopischen Veränderungen derselben nur gering; sind die Drüsen auch noch so voll von Bacillen, so sieht man doch nie Verkäsung oder Verkalkung wie bei der Tuberkulose; ein anderes ist, daß eine Kuh sehr wohl von Tuberkulose und von pseudotuberkulöser Darmentzündung gleichzeitig angegriffen sein kann.

Andere Organe als der Darmkanal und die Gekrösdrüsen werden nicht angegriffen.

Während das makroskopische Bild in keiner Beziehung an die Tuberkulose erinnert, zeigen die durch den Bacillus im Darmkanal und in den Gekrösdrüsen erregten histologischen Veränderungen eine nicht geringe Aehnlichkeit mit den vom Tuberkelbacillus hervorgerufenen; es kommt z. B. oft zur Bildung von Riesenzellen, die durchaus den tuberkulösen Riesenzellen ähnlich sind, wie man auch zahlreiche Epitheloidzellen findet, die oft in der Mitte der Villi angehäuft liegen.

Die von den Tieren dargebotenen Symptome sind Abmagerung trotz guter Freßlust und Diarrhöe. Die letztere hört oft periodenweise auf; medikamentelle Behandlung scheint keinen besonderen Einfluß zu üben. Die Diarrhöe kann außerordentlich heftig sein, in solchen Fällen ist der Kot von völlig wässeriger Beschaffenheit. Uebrigens ist die Diarrhöe kein absolut notwendiges Symptom, in seltenen Fällen kann sie gänzlich fehlen; so beobachtete der Tierarzt P. H. Nielsen in Maribo einen Fall, wo eine Kuh an der Seuche starb, ohne jemals Diarrhöe gehabt zu haben.

Die Krankheit endet, wenn die Tiere sichtlich angegriffen sind, wohl stets mit dem Tode, sofern sie nicht geschlachtet werden, es können aber Jahre verfließen, bis sie zugrunde gehen. Oft tritt nach dem Kalben Verschlimmerung der Krankheit ein. Die Tiere sind gewöhnlich lebhaft, haben kein krankes Aussehen, selbst wenn sie so abgemagert sind, daß sie fast nur aus Haut und Knochen bestehen.

Die chronische pseudotuberkulöse Darmentzündung ist eine Krankheit, die überall auf Erden auftritt; so hat man Berichte über ihr Erscheinen in Deutschland, in der Schweiz, in Frankreich, Belgien, Holland, England, Norwegen, und auch in den Vereinigten Staaten kommt sie vor. An und für sich kennt man die Krankheit schon längst, erst in den letzteren Jahren ist man aber über ihre eigentliche Ursache ins reine gekommen; viele der früher als Darmstrongylose des Rindes beschriebene Fälle haben sich in der Tat als pseudotuberkulöse Darmentzündung erwiesen. In Dänemark wurde die Krankheit von Prof. Bang studiert, der nachwies, daß sie eine ansteckende Seuche ist, die sich auf andere Kühe übertragen läßt, wenn man diese mit Darmschleimhaut der an der Seuche leidenden Rinder füttert. Es erwies sich durch diese Versuche, daß die Seuche eine äußerst chronische Krankheit mit schleichendem Verlauf ist. Z. B. hatte ein etwa 2 Jahre nach der Fütterung getötetes Kalb, das sich nach dem Schlachten als sehr heftig angegriffen erwies, erst während der letzten Monate vor dem Schlachten ausgesprochene Krankheitssymptome dargeboten.

Prof. Bang wies das Vorkommen der Krankheit in Dänemark zum ersten Mal im Januar 1904 an 2 Kühen der roten dänischen Rasse nach, welche der Tierarzt P. H. Nielsen, Maribo, aus einem größeren Gehöfte sandte, wo die Krankheit seit einer Reihe von Jahren herrschte und große Verluste verursachte. Die Seuche kommt sowohl bei dem roten dänischen als dem jütischen Rinde vor, ferner trifft man sie oft beim Jerseyrinde an, unter dem sie an mehreren Orten in Dänemark in großen Beständen ziemlich bösartig auftritt.

Daß die Seuche eine ansteckende Krankheit ist, die in Dänemark eine nicht geringe Rolle spielt, geht daraus hervor, daß die Viehversicherungsgesellschaft Kustos in einem Jahre als Entschädigung für Rinder, die wegen dieser Krankheit getötet wurden oder daran starben, etwa 29000 M. auszahlte.

Trotz zahlreicher Versuche ist es bisher noch niemand gelungen, eine Reinkultur des Bacillus zu erzielen. Dieser scheint für andere Versuchstiere als das Rind sehr wenig pathogen zu sein; impft man ihn in die Bauchhöhle von Kaninchen und Meerschweinchen, so gelingt es nur in einzelnen Fällen, begrenzte Abszesse hervorzurufen. Tuberkulose bekommen die Versuchstiere nicht, es sei denn, daß die Kuh, aus der geimpft wurde, nicht nur von der chronischen Enteritis, sondern auch von der Tuberkulose angegriffen war.

Rinder, die an pseudotuberkulöser Darmentzündung leiden, reagieren nicht auf Tuberkulineinspritzung, selbst nicht, wenn man Dosen von 20 g der gewöhnlichen Tuberkulinlösung anwendet.

Ende 1906 und im Frühling 1907 stellte Prof. Bang im hiesigen Laboratorium Versuche an, um ein (dem Tuberkulin ähnliches) als Diagnostikum anwendbares Toxin dadurch darzustellen, daß er Darmschleimhaut von Rindern, die sehr heftig von der Seuche ergriffen waren und ein Gewimmel von Bakterien enthielten, mit glyzerinhaltigem Wasser extrahierte. Das dargestellte Produkt schien nicht völlig unwirksam zu sein, wenn es in großen Mengen eingespritzt wurde, es gab aber kein ganz befriedigendes Resultat. Dies veranlaßte mich, Versuche darüber anzustellen, wie Rinder mit pseudotuberkulöser Darmentzündung sich verhalten würden, wenn man ihnen Tuberkulin einimpfte, das aus Geflügeltuberkelbacillen bereitet war. Der erste, im Juni 1907 unternommene Versuch hatte indes ein nichts weniger als ermunterndes Ergebnis. Ich impfte 2 Tiere, ein Kalb, das mit Darmschleimhaut einer an pseudotuberkulöser Darmentzündung leidenden Kuh gefüttert worden war, und eine in der Klinik stehende Kuh, die von der genannten Krankheit sehr heftig angegriffen war. Das Kalb zeigte eine typische Reaktion wie nach einer gewöhnlichen Tuberkulinimpfung, die Kuh dagegen reagierte nicht. Daß die Kuh angegriffen war, wußte ich; wie es sich aber mit dem Kalbe verhielt, war sehr ungewiß. Ich brach deshalb die Versuche ab und nahm sie erst im Mai 1908 wieder auf; am 13. Mai 08 impfte ich zwei in der Klinik der tierärztlichen Hochschule befindliche Jerseykühe mit 20 g einer Lösung des Geflügeltuberkulins (1 + 9). Beide Tiere stammten aus einem tuberkulosefreien Bestande und hatten in der Klinik auch bei der Tuberkulinprobe nicht reagiert. Die Temperatur betrug vor der Impfung um 10 Uhr nachm.:

	Am nächsten Tage Uhr	6	8	10	12	2	4	6
1) 38,3		39,0	39,1	40,0	40,0	38,6	38,6	38,7
2) 39,0		39,1	39,2	39,8	39,8	39,3	39,0	38,9

Die Kuh No. 1 starb im Dezember, nachdem sie gekalbt hatte, an der Krankheit; bei der Sektion erwies sich die Darmschleimhaut als stark verdickt und große Mengen Bacillen enthaltend. Die Kuh No. 2

ist noch am Leben, ist aber so heftig angegriffen, daß man in Stückchen der Schleimhaut des Mastdarms Myriaden von Bacillen findet.

Die Größe der Dosen Geflügeltuberkulin, womit ich die Kühe impfte, variierte zwischen 75 cg und 2 g Rohtuberkulin. Das Tuberkulin wurde völlig wie gewöhnliches Tuberkulin dargestellt. Zur Darstellung verwandte ich 8 3—4-monatige an der Oberfläche wachsende Geflügeltuberkulosestämme, die sämtlich direkt aus tuberkulösem Geflügel angelegt worden waren.

An der pseudotuberkulösen Darmentzündung leidende Kühe reagieren mit Steigerung der Temperatur auf Einimpfung des Geflügeltuberkulins ganz in derselben Weise wie tuberkulöse Kühe auf Einimpfung von Tuberkulin.

Oft werden sie gleichzeitig ziemlich krank. Hat man sie des Abends injiziert, wird man nicht selten am nächsten Morgen sehen, daß die Kühe, die im Laufe des Tages reagieren, das Kraftfutter bei der Morgenfütterung verschmähen; überhaupt fressen sie gewöhnlich, solange die Reaktion andauert, bedeutend weniger, wie sie auch beträchtlich weniger Milch liefern. Die Behaarung kann sehr struppig werden; nicht selten werden die Tiere von heftigem Schüttelfrost befallen, bevor die Temperatur zu steigen beginnt. Viele der angegriffenen Rinder bekommen, selbst wenn vor der Einspritzung der Kot völlig normal war, während der Reaktion äußerst heftige Diarrhöe. Diese Diarrhöe dauert mitunter noch den folgenden Tag hindurch an.

Die Störung des Allgemeinbefindens ist doch nicht immer gleich stark hervortretend; zuweilen scheint dasselbe trotz hohen Fiebers so ziemlich ungestört zu bleiben.

Gesunde Tiere lassen sich durch die Einspritzung durchaus nicht genieren.

Aehnlich dem bei der Tuberkulose Beobachteten reagieren sehr stark angegriffene Tiere zuweilen entweder nur sehr wenig oder auch gar nicht auf Einimpfung von Geflügeltuberkulin. Außer dem schon erwähnten führe ich hier ein Beispiel einer solchen mangelhaften Reaktion bei einem sehr heftig angegriffenen Tiere an.

Temperatur vor der Impfung	Am nächsten Tage					
Uhr $9^1/_2$	Uhr $6^1/_2$	$9^1/_2$	$12^1/_4$	3	$5^1/_4$	$7^1/_4$
39,3	39,3	39,7	39,6	39,7	38,9	39,3

Ich verfüge über im ganzen 20 Fälle, wo ich bei der Sektion der reagierenden Tiere die Diagnose bestätigt fand. Keines der Tiere hatte die Tuberkulose. Für einige derselben, die ich aufs Geratewohl herausgegriffen habe, führe ich hier die Temperatur an.

Temperatur vor der Impfung	Am nächsten Tage nach Verlauf von ca.						
	9	11	13	15	17	19	21 Std.
38,7	40,2	40,4	40,4	41,1	40,1	39,8	39,9
38,8	40,3	40,1	39,4	38,3	38,7	39,0	38,9
38,7	40,1	39,9	40,1	39,9	40,2	39,7	39,0
38,7	38,5	39,1	39,6	40,2	40,6	39,4	38,7
38,3	40,0	40,1	39,6	38,8	38,7	39,1	
38,2	40,4	40,9	40,6	40,7	41,0	41,0	
38,4	39,4	40,1	40,1	39,8	39,7	39,2	
38,4	39,7	40,1	40,5	40,0	40,2	40,2	
38,4	39,1	39,9	39,9	39,9	39,7	39,2	
38,5	39,2	38,8	38,9	39,0	40,0	40,5	

Es ward mir die Gelegenheit, einen kleineren und zwei größere tuberkulosefreie Rinderbestände mit Geflügeltuberkulin zu prüfen. Alle 3 Bestände waren von der pseudotuberkulösen Darmentzündung stark gequält; die beiden großen Bestände hatten während des letzten Jahres wohl nicht weniger als 10 Proz. der Milchkühe durch die Seuche verloren. Nach unternommenen Einspritzungen erwies sich das interessante Verhalten, daß die Seuche unter den Beständen weit mehr ausgebreitet war, als man ahnte. Vor der Impfung glaubte man die Seuche, wenigstens für den Augenblick, fast ganz los geworden zu sein. Nichtsdestoweniger reagierten in sämtlichen Gehöften ca. 33 Proz. der Milchkühe. In dem einen Gehöfte wurden außer den Milchkühen auch 58 junge Tiere im Alter zwischen 1 und 2 Jahren geprüft; unter diesen reagierten nur 4. Die jungen Tiere waren in einem anderen Gehöfte aufgestallt, doch hatten sie einigen Verkehr mit den Kühen gehabt, indem während des Sommers einige gelte Kühe neben ihnen auf derselben Weide geweidet hatten, wie auch einige ältere Tiere in demselben Gehöfte aufgestallt waren, wo sich das Jungvieh befand. Zwei dieser älteren Tiere reagierten in typischer Weise; das eine wurde später geschlachtet und erwies sich als von der Seuche heftig angegriffen.

Diese Verhältnisse zeigen eine auffallende Uebereinstimmung mit denjenigen, die man fand, als man anfing, Tuberkulin als diagnostisches Mittel bei der Rindertuberkulose anzuwenden. Glücklicherweise scheint die Seuche jedoch keine so große Verbreitung in den Beständen zu gewinnen wie die Tuberkulose. In Beständen, die von der Tuberkulose stark heimgesucht werden, reagieren ja, praktisch genommen, fast alle erwachsenen Tiere, während hier doch nur 33 Proz. reagierten. Daß die jungen Tiere weit weniger angegriffen sind als die alten, ist ein Verhalten, das dem bei der Tuberkulose gefundenen völlig entspricht.

Dieser Umstand, daß die erwachsenen Tiere weit häufiger angegriffen sind als die ganz jungen, scheint absolut darauf hinzudeuten, daß die Uebertragung der Ansteckung durch das Zusammenleben (im Stall und auf der Weide) mit angegriffenen Tieren stattfindet, daß es sich aber nicht um die Aufnahme eines außerhalb des Rindes im Erdboden lebenden Mikroorganismus handelt. Dies ist ja von allergrößter Wichtigkeit, wenn man gedenkt, mit Erfolg die Bekämpfung der Seuche aufzunehmen.

Sind die oben angestellten Betrachtungen richtig, so scheint mir die Hoffnung berechtigt, daß man mittels des Geflügeltuberkulins imstande sein wird, die Seuche in rationeller Weise zu bekämpfen, da dieses Mittel es ermöglicht, die Krankheit in einem frühen Stadium zu entdecken. Eine durchgeführte Trennung der reagierenden von den gesunden Tieren und eine halbjährliche Prüfung der letzteren lassen es als möglich erscheinen, die Seuche zu begrenzen. Wenn man ausschließlich gesunde junge Tiere in den Bestand aufnähme und die reagierenden Tiere sofort ausmerzte, wenn sie klinische Symptome darbieten, würde man sich im Laufe einiger Jahre auf diese Weise einen völlig gesunden Bestand verschaffen können. Von vornherein sollte man glauben, daß die chronische pseudotuberkulöse Darmentzündung wohl mittels der Isolierungsmethode leichter zu bekämpfen wäre als die Tuberkulose, da sie nicht so ansteckend wie letztere ist.

Es werden jetzt in mehreren Gehöften Versuche angestellt werden, die Seuche in oben genannter Weise zu bekämpfen.

Eine erhebliche Schwierigkeit findet die Anwendung des Geflügeltuberkulins in nicht tuberkulosefreien Beständen, die nämlich, daß tuberkulöse Rinder auf Geflügeltuberkulin reagieren können. Ein wie gutes oder schlechtes Diagnostikum für die Tuberkulose das in großen Dosen (ca. 2 ccm konzentriertes Tuberkulin) angewandte Geflügeltuberkulin ist, darüber kann ich mich nicht auf Grundlage eigener Erfahrungen äußern, ein zuverlässiges ist es aber keineswegs. Hat man mit tuberkulösen Beständen zu tun, so werden Prüfungen mit Geflügeltuberkulin nur den Aufschluß geben, daß die reagierenden Tiere entweder die Tuberkulose oder die pseudotuberkulöse Darmentzündung haben. Unternimmt man dann zugleich die gewöhnliche Tuberkulinprobe oder die Ophthalmoreaktion, wird man sich vergewissern können, ob die Tiere die Tuberkulose haben. Es scheint mir übrigens, daß sich nichts dagegen einwenden ließe, wenn man sowohl die an Tuberkulose als die an pseudotuberkulöser Darmentzündung leidenden Tiere in einer reagierenden Abteilung unterbrächte, die gesunden Tiere aber von dieser abgesondert hielte; dadurch würde man erzielen, daß man beide Seuchen zugleich bekämpfen könnte, ohne daß die Mühe (die wiederholte Tuberkulinprobe abgerechnet) größer werden würde als bei der Bekämpfung der Tuberkulose nach Prof. Bangs Methode.

Bekanntlich sterben Meerschweinchen, die mit Tuberkulose infiziert sind, wenn man ihnen eine verhältnismäßig geringe Menge Tuberkulin einimpft.

Ich unternahm ein paar orientierende Versuche mit Einimpfung von Geflügeltuberkulin an Meerschweinchen, die mit Gekrösdrüsen aus Rindern mit pseudotuberkulöser Darmentzündung infiziert worden waren. Hierbei erwies es sich, daß zwei solche Meerschweinchen nach Verlauf von 12 Stunden an Dosen starben, die gesunde Meerschweinchen durchaus nicht genierten; einem dritten Meerschweinchen aus derselben Schar wurde gewöhnliches Tuberkulin in ebenso großer Menge eingespritzt wie den anderen das Geflügeltuberkulin; es überlebte die Einspritzung. Diese Versuche, die ich fortzusetzen gedenke, zeigen somit eine hübsche Analogie zu den Erscheinungen bei der Tuberkulose. Die Meerschweinchen zeigten bei der Sektion seröses Exsudat und Blutungen an der Impfstelle und einige Anschwellung der Milz.

Dieselben Versuche stellte ich mit 3 Kaninchen an. Diese verhielten sich ganz ebenso wie die Meerschweinchen, nur war die Anschwellung der Milz bei zwei derselben, die starben, weit beträchtlicher.

Die Frage liegt ja nahe, ob diese chronische pseudotuberkulöse Darmentzündung denn nicht durch Geflügeltuberkelbacillen erregt werde. Recht interessant ist es übrigens, daß diese Frage schon von Johne und Frothingham aufgeworfen wurde, welche einen Fall dieser Krankheit zuerst beobachteten und beschrieben, und daß sie später auch von anderen Forschern gestellt wurde. Es ist hierauf zu antworten, daß dies wohl kaum der Fall sein kann, erstens, weil Hühner gegen Impfung und Fütterung mit Material aus Rindern mit pseudotuberkulöser Darmentzündung noch mehr resistent sind als die anderen kleinen Tiere, die verwendet wurden, und ferner, weil Rinder, die man mit Geflügeltuberkelbacillen füttert, echt tuberkulöse Veränderungen darbieten (Mettam, de Jong, eigene Untersuchungen).

Nachdruck verboten.

Ueber das Verhältnis der zur Darstellung gelangenden Tuberkelbacillen bei Sputumfärbemethoden.

[Aus der Prosektur der Landeskrankenanstalt in Olmütz.]

Von Dr. **F. Berka,** Prosektor.

Die in letzter Zeit in dieser Zeitschrift publizierten Artikel Caans und Gasis über neue Färbungsweisen der Tuberkelbacillen (Caan, Vergleichende Untersuchungen über neuere Methoden der Tuberkelpilzfärbung, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 49. p. 637 und Gasis, Ueber eine neue Reaktion der Tuberkelbacillen, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 50. p. 111) betonen beide die Inferiorität der sich sonst der allgemeinen Beliebtheit erfreuenden Methode nach Ziehl-Neelsen. Sowohl die angegebene Methode von Gasis, welche Tuberkelbacillen mit sauren Anilinfarben tingiert, als auch die von Caan empfohlene Methode Hermans, sollen im mikroskopischen Präparate weit mehr Tuberkelbacillen zur Darstellung bringen.

Die Tatsache, daß mit der Ziehlschen Methode weniger Bacillen sich darstellen lassen, als mit anderen, ist übrigens nicht neu, und war schon in der Anfangsära der Forschungen über den Tuberkuloseerreger bekannt. Siehe unter anderen den Artikel Cornets über Tuberkulose in Kolle-Wassermanns Handbuch der pathogenen Mikroorganismen Bd. 2. p. 91: „In einem Falle von Lungentuberkulose konnte weder Wolff noch Weigert in zahlreichen Schnitten, die nach Ziehl gefärbt waren, Bacillen auffinden, doch gelang dies leicht durch Ehrlichsche Färbung, die sich also überlegen zeigte, und bei dringendem Verdachte, wenn nach der Ziehlschen Methode sich Bacillen nicht finden, eine schätzbare Kontrolle bietet.“

Da nach den Angaben Caans die Hermansche Färbung in hervorragendem Maße die Tuberkelbacillenformen zur Darstellung bringt, wie auch Calmette betont, selbst dort, wo andere versagten, versuchte Herr med. cand. W. Winkler bei uns die Brauchbarkeit der Hermanschen Methode in der Praxis der Sputumfärbung zu prüfen, um sich über die Vorteile derselben namentlich für die klinischen Zwecke zu vergewissern.

Es wurden Parallelfärbungen mit Aufstrichen von großer Anzahl tuberkulöser Sputa angestellt, und zwar in folgender Weise:

1) Ein Präparat wurde nach Ziehl-Neelsen behandelt (Karbolfuchsin in der Flamme, Entfärben mit 25-proz. Schwefelsäure, Abspülen mit 90-proz. Alkohol, Nachfärbung mit Methylenblau).

2) Ein zweiter Aufstrich vom selben Sputumpartikel wurde nach Ehrlich gefärbt (Anilingentiana in der Flamme, Entfärbung in 33-proz. Salpetersäure, Abspülen mit 60-proz. Alkohol, Kontrastfärbung mit Bismarckbraun).

3) Die zu prüfende Hermansche Methode wurde zunächst in der von Caan angegebenen Modifikation angewendet (Kontrastfärbung mit alkoholischem Karmin nach Paul Mayer statt des ursprünglichen Eosins). Der in der Flamme fixierte Sputumaufstrich wurde 10 Minuten mit Paul Mayer-Karmin vorgefärbt, dann zunächst mit Salzsäurealkohol abgespült, ferner noch mit Wasser. Das so rotgefärbte Präparat wird mit Ammoniumkarbonatkristallviolett (3 Teile 1-proz. wässeriger Ammoniumkarbonat- und 1 Teil alkoholischer konzentrierter Kristallviolett-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

lösung [gut mischen, die Mischung stets frisch zu bereiten]) in der Flamme erwärmt. Nachträgliche Entfärbung in 10-proz. Salpetersäure durch nur einige Sekunden und im 95-proz. Alkohol bis zum Auftreten der ersten Farbe (Karmin).

Da die vorangeführte Art und Weise der Tuberkelpilzfärbung durch die Karminbehandlung umständlicher sich erweist, längere Zeit erfordert, als die meist angewendeten Sputumfärbungen, empfehlen wir statt der Karminvorfärbung eine Bismarckbraunfärbung, durch welche Modifikation die Methode an Handlichkeit und Brauchbarkeit nur gewinnt. Ammoniumkarbonatkristallviolett (3 : 1) in der Flamme, Entfärben mit 10-proz. HNO_3 und dann in 95-proz. Alkohol, Bismarckbraun (Bismarckbraun 2,0, Alkohol 95-proz. 60,0, Aqua destill. 40,0) 1 Minute, Abspülen mit Wasser, Trocknen.

Zur Vergleichung der Resultate wurden zunächst in mehreren Gesichtsfeldern die Tuberkelbacillen gezählt; oft genügte schon der subjektive Eindruck zur Beurteilung (ob spärliche, viele, ob mehr oder weniger, als im vorherigen Präparate etc.).

Zunächst bestätigten die Nachprüfungen vollkommen die Angaben, daß sich bedeutend mehr Tuberkelbacillen durch die Hermansche Methode darstellen lassen, als durch die Ziehlsche (in unseren Fällen durchschnittlich 20mal so viel), ja daß man öfters, wenn die Ziehlsche versagt, noch mittels Kristallviolettvor- und Bismarckbraunnachfärbung Tuberkelbacillen nachweisen (in ca. 30 Proz. der Fälle [bei Durchsicht von 30 Gesichtsfeldern)].

Nicht so hochgradig ist der Unterschied zwischen den Resultaten der Koch-Ehrlichschen und der Hermanschen Methode, obwohl auch hier durch letztere mehr Bacillen gefärbt wurden, und auch mehrere Sputa nach Koch-Ehrlich negativ sich verhielten, wo durch Herman Tuberkelbacillen gefunden werden konnten.

Selbst jedoch bei Hermans Färbung konnte die Anzahl der erscheinenden Bacillen variiert werden, je nachdem, ob die Entfärbung in Säure und Alkohol rascher oder protrahierter vor sich geht. Bei längerer Säurewirkung entfärben sich auch hier viele Tuberkelbacillen, während man relativ die meisten vorfindet, wenn die Entfärbung möglichst kurz dauert (selbstverständlich ist hier immer von keinen anderen als Tuberkelbacillen die Rede, deren Säurefestigkeit, wie man sich überzeugt, oft sehr ungleichen Grades ist).

Ganz besonders instruktiv können diese Verhältnisse vor Augen geführt werden, wenn man ein und dasselbe Präparat nacheinander umfärbt (wenn man ein bereits gefärbtes Präparat von neuem vom Anfang an färbt, was bei Sputis unschwer durchzuführen ist, da die erste Färbung durch die nachherigen Manipulationen sich ganz verliert). Bei Zählen überzeugt man sich, daß bei zweiter Färbung auf derselben Stelle Bacillen aufgetaucht oder verschwunden sind, je nach der Entfärbungsdauer bei der zweiten Färbung.

Man kann bei solcher Umfärbung nacheinander auch leicht zwei verschiedene Methoden anwenden, und so einwandsfrei auf derselben Stelle die Menge der jeweilig dargestellten Tuberkelpilze kontrollieren. Auf diese Weise sieht man oft, daß dort, wo die Ziehl-Färbung keine Bacillen darzustellen vermochte, nachträglich (Entfernung des Cedernöls mit Xylol, Abspülen mit Alkohol, Färben von neuem), Bacillen (mit Herman) zum Vorschein kommen. Eine solche Kontrolle ist quantitativ einwandfreier, als der Vergleich von zwei verschieden gefärbten Präparaten desselben Sputums, da immerhin zwei Präparate selbst vom selben Partikel kaum je gleiche und gleichverteilte Bacillenmengen entfalten werden.

Außerdem läßt sich bei solcher Versuchsanordnung leicht nachweisen, daß selbst durch eine Ziehl-Färbung größere Bacillenmengen dargestellt werden können, wenn man dabei nur die Entfärbungsflüssigkeit wechselt und statt 25-proz. Schwefelsäure z. B. die schwächere 10-proz. Salpetersäure benutzt. Aehnliches ist der Fall bei der Koch-Ehrlich-Färbung, wenn man statt 33-proz. die 10-proz. HNO_3 verwendet. Ja man kann stufenweise stets größere Mengen von Tuberkelpilzen darstellen, wenn man wieder stufenweise die zur Entfärbung dienende Säure abschwächt (oder verdünnt) (so benutzten wir zunächst als stärkste 25-proz. H_2SO_4, dann als Mittel 33-proz. HNO_3, als schwächste die von Herman vorgeschlagene 10-proz. HNO_3 mit steigendem Erfolge).

Die Zahl der dargestellten Tuberkelbacillen im mikroskopischen Präparate wird also vorwiegend durch die Entfärbungsweise bestimmt, jedoch nicht ausschließlich. Man bekommt nämlich beim Variieren der Färbungen unter Beibehalten derselben Entfärbungsart bessere Resultate, wenn mit Kristallviolett vor- und Bismarckbraun nachgefärbt wird, als mit der Karbolfuchsin-Methylenblaukombination. Der Zuwachs ist jedoch keineswegs so beträchtlich, wie beim Wechseln der Entfärbung. Dagegen lassen sich besondere Unterschiede nicht wahrnehmen, wenn statt Ammoniumkarbonat-Kristallviolettvorfärbung die mit Anilingentiana eingesetzt wurde.

Es scheint mithin, daß der Gruppe der Violettfarbstoffe, welche ja chemisch abgrenzbar ist und sich bereits in der Bakterienfärbung durch die alleinige Eignung zur Gram-Färbung eine besondere Stellung erwirkt hat, eine intensivere Tinktionskraft auch in bezug auf Tuberkelbacillen zukommt, als anderen Anilinfarben. Vielleicht ist auch die bessere Kontrastwirkung des Bismarckbrauns als des mit Methylenblau gefärbten Grundes beim Auffinden isolierter Bacillen von Vorteil.

Wegen der erwähnten Umstände leistet z. B. die Hermansche Methode mehr, als die zur Darstellung möglichst vieler Bacillen im Sputum seiner Zeit angegebenen Methoden von Czaplewski und von Weichselbaum. Diesen Methoden, welche beide zur Verhütung allzustarker Entfärbung Mineralsäuren ausschalten (das Entfärbungsagens bei Czaplewski ist bekanntlich Fluoresceinalkohol, bei Weichselbaum der in der Kontrastfarbe selbst [alkoholisches Methylenblau] enthaltener Alkohol) haftet oft der Ueberstand der mangelhaften Grundentfärbung an. Uns gelang es mittels Czaplewski nur ca. die Hälfte der mit Herman dargestellten Bacillen vorzufinden; ebensoviel, oder noch weniger mit Weichselbaum.

Aus obiger Untersuchung ergeben sich folgende Schlüsse:

Für die Zahl der bei den Sputumfärbemethoden dargestellten Tuberkelbacillen ist hauptsächlich maßgebend die Entfärbungsprozedur; außerdem scheinen einzelne Farben besser die Tuberkelpilze zu tingieren, namentlich die der Violettgruppe.

Die gebräuchliche Sputumfärbung nach Ziehl-Neelsen steht in bezug auf die Darstellung vieler Tuberkelbacillen den sonstigen Methoden nach, von denen besonders die Hermansche die meisten zum Vorschein bringt, und sich daher besonders auch zur klinischen Diagnostik gut eignet.

Nachdruck verboten.

Dextrose vs. lactose for detecting the colon bacillus[1]).

[From the Bacteriological Laboratory of the State and City Boards of Health, Baltimore, Maryland.]

By **Wm. Royal Stokes** and **Harry W. Stoner,** Baltimore, Md.

Ever since the classical paper of Theobald Smith (1) on "The fermentation tube" in 1893, the attention of bacteriologists has been directed to the isolation of the colon bacillus from water by the Smith method. In this article the use of dextrose broth was recommended, and if the gas produced by the water varied between 40% and 70% the writer thought that all gas-producing water bacteria might be eliminated except the Bac. coli, Bac. lactis aërogenes and Bac. cholerae suis.

This method was a great advance in the bacteriology of water, and the use of dextrose bouillon both as a presumptive test, and as a preliminary to plating out the colon bacillus in pure culture has been continued by many bacteriologists until the present time.

The investigation of the river waters of Illinois by Jordan (2) demonstrated the presence of several distinct gas-producing types besides the Bacillus coli, and later one of the present writers classified these gas-producers as 5 different groups. The Bacillus vulgaris group, the Bacillus cloacae group and the hog-cholera group all produce gas in dextrose but not in lactose, and the Bacillus gasoformans forms about 80% to 100% of gas in dextrose, lactose, and saccharose. It can thus be seen that none of the groups of gas-forming water bacteria act upon lactose in the same way as the colon bacillus, since the Bacillus coli produces from 20% to 70% of gas in lactose bouillon in the fermentation tube.

One of us (3) therefore in 1904 suggested the use of lactose instead of dextrose for use in the fermentation tube, since if dextrose is used we must go to the trouble of plating out any of the 5 groups which produce gas in this medium. If we use lactose, we eliminate all of the other groups except the Bacillus coli, since none ferment lactose except Bacillus gasoformans and this organism forms more gas than Bacillus coli.

In order to show how much trouble is saved by using lactose it was found that out of 567 gas-producing bacteria isolated from the various water supplies of Maryland when dextrose bouillon was used, only 295 or 52% were colon bacilli and all the rest were members of the various other groups.

Of these groups the Proteus vulgaris was isolated 58 times, the Bacillus cloacae 130 times, the Bacillus gasoformans 55 times, and the Bacillus enteritidis 13 times.

In order to show the comparative infrequency of organisms other than the colon bacillus when lactose bouillon or lactose bile is used as a preliminary test we have examined the results from plating out 3752 cultures in the fermentation tube from the routine examinations of milk, and from fermentation tubes inoculated with water. In all of these tests lactose was used in the bouillon or bile instead of dextrose.

---

1) Read at the 36th Annual Meeting of the American Public Health Association. Winnipeg, Manitoba, Dominion of Canada.

In 1574 examinations of milk when $^1/_{1000}$ of a c. c. was used we found the various other types of gas-producing bacteria 56 times or in 3 % of the examinations.

In 2178 examinations of water we found other gas-producing types in 199 instances or in 9 %.

Adding the results we find that in 3752 examinations of milk and water the other gas-producing organisms were only found in 6 % of the specimens.

When we compare this small percentage to the 48 % of other gas-producing bacteria isolated when dextrose bouillon was used as a preliminary test we can see that we are saved much trouble by using lactose instead of dextrose. Since we only look for colon bacilli in water, we are spared the trouble of working out so many other types of gas-producing bacteria.

Sawin (4) has compared the number of positive tests for the colon bacillus when dextrose broth in employed, to those resulting when lactose bile is used. In both cases he simply compared the preliminary gas-production in tubes inoculated with water from deep wells, shallow wells, fairly pure lakes, polluted rivers, and sewage. He found that only 38 % of samples gave the presumptive test with dextrose bouillon, while 54 % gave a presumptive test of the colon bacillus when lactose bile was used. This would seem to show that the colon bacillus will develop more frequently in lactose bile than in dextrose bouillon, but Weston and Tarbett (5) have had somewhat different results.

These writers made comparative experiments with 63 samples of water, and of these 21 gave no gas formation when either medium was used. Eighteen gave gas with both media and 24 only fermented dextrose broth and not with lactose bile. Of the 18 samples fermenting both media, the colon bacilli were obtained eight times from dextrose, and 14 colon tests were positive with lactose bile. So far the results are in favor of lactose bile, but in 24 samples only fermenting dextrose colon bacilli were isolated 8 times. It would seem that lactose bile may occasionally fail to detect the colon when present, but even if this is the case the work of Sawin seems to show that usually lactose bile will detect colon bacilli more frequently than dextrose broth.

Prescott and Winslow (6) also report that in 176 surface waters the lactose bile only gave 64 positive colon results while dextrose broth gave 70, and they believe that in waters heavily polluted lactose bile is best, but when only a few colon bacilli are present in slightly polluted waters they think that lactose bile inhibits the colon bacillus, and that dextrose broth should be used.

Parker (7) compared the results of dextrose broth and lactose bile by always inoculating the same water in both media. He found that positive dextrose presumptive tests were followed by isolations of the colon bacillus in 80 % of cases, while when lactose bile was used the percentage arose to 94 %.

We have also made a few comparative tests between dextrose bouillon and lactose bile, by inoculating each with 10 c. c., 1 c. c. and 0,1 c. c. of the same specimen of water. Nine specimens were examined.

In the lactose bile inoculated with 10 c. c. of water fermentation between 20 % and 70 % occurred in seven specimens and the colon bacillus was isolated from each of the seven. In the tubes inoculated with 1 c. c. of water fermentation between 20 % and 70 % occurred in five of the tubes and the colon bacillus was isolated from four. None of the tubes inoculated with 0,1 c. c. showed fermentation.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

In the dextrose broth inoculated with 10 c. c. of water between 20% and 70% fermentation occurred in all of the nine tubes but the colon bacillus was obtained from only three. Seven of the tubes inoculated with 1 c. c. of water gave a fermentation between 20% and 70% but the colon bacillus was not isolated from any of the specimens. Five of the tubes inoculated with 0,1 c. c. gave a fermentation between 20% and 70% but the colon bacillus was not isolated from any of them.

The colon bacillus was isolated from the lactose bile in five specimens in which it was not found in the corresponding dextrose broth, and was found in one dextrose bouillon specimen in which there was no fermentation in lactose bile.

Although few in number yet these tests agree with the results of others in showing that lactose bile is more reliable than dextrose bouillon for isolating the colon bacillus. In 12 instances in which fermentation took place in the lactose bile the colon bacillus was isolated 11 times, but in 22 cases in which dextrose broth was inoculated with the same water and fermentation resulted, the colon was only found three times.

In adding up the various percentages of the various authors in which the colon bacillus was detected in dextrose bouillon and lactose bouillon or bile, we find that the dextrose medium gave positive results in 41,1% while the lactose medium gave positive results for the colon bacillus in 58,5% of cases. There are two distinct advantages, therefore, in the use of the lactose medium, in the first place it eliminates a much larger percentage of gas forming bacteria other than the colon bacillus, and in the second place the colon bacillus itself develops in a larger number of instances in a lactose medium than in a glucose medium.

In 1907 Jackson (8) proposed the use of lactose bile for detecting Bac. coli in water, basing his method upon results from over 5000 examinations of water. This method has rapidly gained in favor over the dextrose and lactose broth methods.

In order to see whether lactose bile eliminated a greater percentage of non-colon gas-producing types than neutral red lactose bouillon we have examined the gas-producing organisms from 999 examinations made by plating out pure cultures from lactose bile, and 1593 similar organisms from lactose neutral red bouillon.

In the 999 examinations made with lactose bile types other than the colon bacillus were isolated 58 times, or in 5% of cases, while in the 1593 lactose neutral red bouillon fermentation tubes types other than colon were isolated 197 times, or in 12% of the tests.

This clearly shows that when lactose bile is used the development of types other than Bacillus coli were reduced to a minimum of 5% and that this medium is the best selective medium known at present for the detection of the colon bacillus.

We have also made 25 comparative tests between lactose bile and neutral red lactose bouillon by inoculating a fermentation tube containing each medium with 1 c. c. of the same water. The colon bacillus was isolated 20 times from lactose bile, and in two more instances the presumptive test was positive, and if we had studied more colonies from these two tests we would have probably isolated the colon bacillus. It may be assumed that this organism was found in 22 cases when lactose bile was used. The other three tubes showed from 5% to 15% of gas and no colon bacilli were found.

From the 25 neutral red lactose bouillon tubes we only isolated the colon bacillus 12 times. Two presumptive tests were positive, but the colon was not isolated. In comparing these results we see 22 to 12 in favor of lactose bile.

The Presumptive Test.

Whipple (9) in 1903 examined many surface waters by means of the so-called presumptive test, using dextrose bouillon. If 25 % to 70 % of gas developed and the ratio of hydrogen to carbon-dioxide was 2—1 the test was regarded as positive for Bacillus coli.

It has been shown by Longley and Baton (10) that in 3553 samples of Potomac river water the presumptive test was positive 794 times, but the colon bacillus was only isolated 529 times or in 67 % of cases. Gage also reports about 70 % of presumptive tests as positive. Dextrose was used in the fermentation tubes.

Stoughton (11) also found that while the presumptive tests of the Croton water in New York were only positive in 6 out of 63 examinations yet the Bacillus coli was isolated 54 times by plating out and securing pure cultures. This shows that the colon bacillus can often be present in waters giving a negative presumptive test.

Our records show that in 109 water examinations in which the presumptive test with dextrose was positive that the Bacillus coli was isolated 52 times, while gas-producing types other than B. coli were isolated 57 times. We also looked up the records of 28 negative presumptive tests in which the amount of gas was under 15 % or over 80 %.

We isolated B. coli 10 times from these negative presumptive tests, and other gas-producing bacteria 18 times. The colon bacillus is often not obtained in positive presumptive tests, and is frequently obtained in negative presumptive tests when dextrose is used. This is due to the fact that all of the other gas-producing types can ferment dextrose, and a positive presumptive test is frequently produced by Bacillus gasoformans, Bac. vulgaris, Bac. cholerae suis, and Bac. cloacae. Fortyseven per cent of organisms from the presumptive test with dextrose were Bac. coli, and 53 % were types other than Bac. coli. In the negative presumptive tests Bac. coli was isolated in 35 % of cases, and other gas-producing types in 65 % of tests.

The sources of error with dextrose broth as a presumptive test were so great that we thought these might be less when lactose was used instead. We therefore analysed the results from 1116 preliminary inoculations of lactose neutral red bouillon in the fermentation tube in which the gas-production was between 15 % and 80 %. This might be described as a presumptive test with lactose instead of dextrose. In 796 cases or 71 % Bac. coli was isolated, and in 209 cases types other than Bac. coli were obtained.

In 111 instances the gas-production was under 15 % or over 80 % and Bac. coli was isolated 24 times, and other types 87 times. Even in negative tests the colon bacillus was found in 22 % of cases.

The use of this medium as a presumptive test reduces the sources of error when compared to the 53 % and 35 % from dextrose broth.

When lactose bile was used as a presumptive test the sources of error were even further reduced. In 529 positive presumptive tests in which the gas formation was between 15 % and 80 % the B. coli was isolated 475 times or in 90 % of cases, and types other than B. coli were only found in 10 % of the tests. In 31 tests the presumptive test was negative being under 15 % of over 80 %. The colon was isolated 10 times or in 32 % of cases, showing still that negative presumptive tests even with lactose bile are by no means conclusive.

Parker found colon in pure culture in 90% of the cases in which the lactose bile presumptive test was positive.

We have also performed a few experiments with various amounts of lactose in the broth, and the results show that the Bacillus coli is obtained more frequently in a 1% medium. One hundred and twenty-three presumptive tests were made with 1% and 0,1% lactose broth. The colon bacillus was isolated from the 1% medium 84 times or 68%, and from the 0,1% only 59 times or 41%. Twenty specimens of water were inoculated into 0,1%, 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, and 3% lactose broth. With the exception of the 0,1% and 0,25% the results were similar and the number of positives about alike in all.

Thirty-six fermentation tubes of 1% lactose broth were inoculated with the colon bacillus and the amount of gas was noted at the end of 24, 48, 72, and 96 hours and at the end of 9 days. In 12 specimens the largest percentage of gas was reached at the end of 24 hours; in 14 it did not reach its maximum until the end of 48 hours, and in 8 it reached its highest point at the end of 72 hours. Only three of the specimens gave less than 20% fermentation at the end of 24 hours, and all had produced 20% or more of gas at the end of 48 hours. In only one case was there more than typical colon fermentation, and in this case the amount of gas produced was 90% at the 24 hour reading. In this case absorption occurred, and at the end of 48 hours there was but 80% of gas; at the end of 72 hours 70%; at the end of 96 hours 60%, and at the end of 9 days only 50% of the gas remained. In seven specimens there was absorption of from 5% to 10% at the end of 48 hours; in 7 more there was absorption of from 5%—10% at the end of 72 hours; in 11 there was absorption of 5%—30% at the end of 96 hours, and in 14 specimens there was absorption of from 10%—40% at the end of 9 days.

While few in number the experiment indicates that the amount of gas may be read at any time between 48 and 96 hours, perhaps 72 hours being the best time, but the readings should not be made before the end of 48 hours, as some cultures do not give a fermentation before that time, and that after being allowed to stand longer than 96 hours the amount of absorption may be sufficient to cause errors.

Conclusions.

From our experience and those of others we believe that in the diagnosis of the colon bacillus dextrose, lactose and saccharose broth should all be used, and that the organisms should always be plated out in pure culture. Both the "Standard Methods of Water Analysis (12)"; and Prescott and Winslow's admirable book on "Elements of Water Bacteriology" simply recommend that dextrose broth be used.

A great many of the types other than colon will ferment dextrose exactly like the colon, and many of these types of B. cloacae, B. vulgaris (Proteus vulgaris), B. gasoformans, and B. choleræ suis will acidulate milk, and do not liquify gelatin, and yet none except the B. gasoformans will produce any gas in lactose broth and are certainly not colon bacilli. If we simply use dextrose broth as a criterion these might be considered as colon, and we believe that much of the conflicting evidence is due to the failure to use lactose and saccharose.

If one sugar must be used to identify sub-cultures let it be lactose broth and not dextrose.

Lactose bile should be used as the preliminary test, and sub-cultures should always be made. The reports at present, concerning the greater relative proportion of isolations of B. coli from dextrose and lactose media are conflicting. Unless it is proven that dextrose broth constantly gives a greater proportion of positive findings, the advantages of lactose bile should preserve it in the place of first honor, and the burden of further proof for dextrose broth is upon the adherents of this medium.

A presumptive bile lactose test is probably allowable in outlining the limits and direction of sewage in large bodies of water, but otherwise sub-cultures should always be plated and studied.

We are aware that only the negative side of this question has been presented thoroughly in this paper, namely, why dextrose should not be used. We therefore propose that a series of comparative tests between dextrose broth and lactose bile should be made under the direction of the Committee on Standard Methods of Water Analysis. Any organism producing from 15% to 80% of gas in dextrose, lactose and saccharose broths might be considered as the colon bacillus if it also shows the usual cultural characteristics of this organism. If lactose bile destroys a large percentage of colon bacilli it should be abandoned. If the percentage is negligable it should be used instead of dextrose broth.

Literature.

1) Wilder, Quarter Century Book. 1893. p. 187.
2) Journ. of Hygiene. Vol. 3. 1903. p. 1.
3) Journ. of Infect. Dis. Vol. 1. 1904. p. 341.
4) Ibid. Supplem. 3. p. 33.
5) Ibid. p. 39.
6) Amer. Journ. of Publ. Health. Vol. 4. 1908. p. 19.
7) Ibid. Vol. 4. 1908. p. 137.
8) Ibid. Vol. 4. 1908. p. 16.
9) Technology Quarterly. Vol. 16. 1903. p. 18.
10) Journ. Infect. Dis. Vol. 4. 1907. p. 397.
11) Ibid. Supplement. 2. 1905. p. 147.
12) Ibid. Supplement. 1. 1905. p. 1.

Inhalt.

Babes, V., Schlußbemerkungen zur „Antwort“ des Herrn Dr. B. Lipschütz, die bei Wut gefundenen kleinsten Körperchen betreffend, p. 448.
Bang, O., Das Geflügeltuberkulin als diagnostisches Mittel bei der chronischen pseudotuberkulösen Darmentzündung des Rindes (Johnes disease), p. 450.
Berka, F., Ueber das Verhältnis der zur Darstellung gelangenden Tuberkelbacillen bei Sputumfärbemethoden, p. 456.
Fischoeder, F., Beiträge zur Kenntnis des Milzbrandes, p. 320.
Forster, Ueber die Abtötung der Tuberkelbacillen durch Erhitzung, p. 417.
Heim, L., Bemerkungen zu der Abhandlung von Carlo Bezzola in Bd. 50, p. 519: Können die Muskeln als Bildungsstätte der Antikörper betrachtet werden? p. 432.
Landsteiuer, Karl, Zu der Mitteilung von C. Bezzola: „Ueber die bakteriolytischen Eigenschaften des Paratyphus-B-Immunserums“, p. 432.
v. Liebermann jun., L., Ueber die Reduktion des Oxyhämoglobins und einiger anderer Stoffe durch Bakterien, p. 440.
Siebert, C., Zur Biologie der Tuberkelbacillen, p. 305.
Stokes, Wm. Royal and **Stoner, Harry W.,** Dextrose vs. lactose for detecting the colon bacillus, p. 459.
Strubell, Ueber die Einwirkung der Pyocyanase auf das Diphtherietoxin, p. 426.
Walter, E., Ueber die desinfektorische Wirkung der Zahncreme Kolynos, p. 434.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 51. Heft 5.

Nachdruck verboten.

Ueber Indolbildung durch Bakterien.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Finkler.]

Von Privatdozent Dr. **Selter,**
Vorsteher der Medizinaluntersuchungsstelle.

Der Nachweis von Indol in den Kulturflüssigkeiten, oder die Indolreaktion, spielt als diagnostisches Merkmal zur Differenzierung mancher Bakterien eine gewisse Rolle, und wird das Eintreten oder Nichteintreten der Reaktion für die verschiedenen Bakterien als typisch angesehen. Neben der sogenannten Cholerarotreaktion, auf die ich hier nicht eingehen will, wird die Indolreaktion besonders bei Unterscheidung von Typhus-, Paratyphus-, Dysenterie-, einerseits und der Gruppe der Coli-Bacillen und Pseudodysenteriebacillen andererseits angewandt. Wenn uns heute auch manche andere diagnostische Hilfsmittel zur Verfügung stehen, so ist unser Reichtum daran doch nicht so groß, daß wir ältere, erprobte Verfahren, wie die Indolprobe, entbehren möchten. Die Indolreaktion beruht bekanntlich auf der Bildung eines roten Farbstoffes, des salpetersauren Nitrosoindols, nach Zusatz von salpetriger Säure und reiner Schwefelsäure zur Indollösung.

Zur Prüfung auf Indol wird nach Salkowsky[1]) am besten zu ca. 10 ccm der betreffenden Kulturflüssigkeit 1 ccm einer Lösung von Natriumnitrit (1:5000) und 1 ccm 25-proz. Schwefelsäure gefügt. Ist Indol vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit je nach der Menge des Indols rosa bis dunkelrot. Der Farbstoff geht beim Schütteln mit Amylalkohol in diesen über, da das salpetersaure Nitrosoindol darin vollkommen löslich ist. Soweit scheint die Reaktion recht einfach und handlich zu sein. Doch hat sich im Laufe der Zeit gezeigt, daß verschiedene Versuchsmaßregeln beobachtet werden müssen, wenn man sichere Ergebnisse erhalten will. Selbstverständlich Voraussetzung für die Bildung von Indol in der Kulturflüssigkeit durch Bakterien ist die Anwesenheit von Eiweißstoffen, da ja nur durch Zersetzung dieser Indol entsteht.

Nach dem Vorgang von Kitasato[2]) wählt man als Kulturflüssigkeit gewöhnlich peptonhaltige Bouillon. Aber selbst angenommen, daß das Pepton stets ein gleichmäßiges Präparat wäre, so ist jedenfalls der Fleischsaft nichts weniger als gleichmäßig zusammengesetzt. Daher glaubt Kruse[3]), daß ein großer Teil der Angaben bezüglich der Inkonstanz und Veränderlichkeit der Indolproduktion sich durch die wechselnde Zusammensetzung des Peptons und Kochsalzes, sowie des Fleischsaftes erklären lasse. Auch Traubenzuckergehalt der Nährlösung ist nach ihm von Einfluß; schon wenn derselbe über 0,25 Proz. beträgt, ist keine Reaktion mehr zu erzielen. Bei einer anderen Arbeit fanden Kruse und Pasquale[4]), daß zur Differenzierung der Bakterien ein negativer Ausfall der Indolreaktion nur unter bestimmten Bedingungen entscheidend ist. In manchen Proben von Peptonbouillon, die in völlig gleichmäßiger Weise bereitet waren, gelang es ihnen selbst bei Bakterien, die sonst Indol zu bilden pflegen, nicht, die positive Reaktion zu erhalten. Auch Gorini[1]) schreibt das Ausbleiben der Indolreaktion dem Vorhandensein von Traubenzucker in der Nährlösung zu. Um diesen Faktor auszuschalten, empfiehlt Smith[2]) beim Studium der Indolbildung durch Bakterien möglichst zuckerfreie Bouillon zu nehmen, zu deren Herstellung er folgendes Rezept angibt:

---

[1]) E. und H. Salkowsky, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 8. p. 417.
[2]) Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7.
[3]) Kruse, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 16.
[4]) Kruse u. Pasquale, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 16.

Man nehme Fleischinfus, impfe es mit B. coli (oder einem anderen Säurebildner) und lasse es über Nacht im Wärmeschrank stehen. Dann koche man, filtriere, setze Pepton und Salz hinzu und neutralisiere. Die fertige Bouillon muß noch mittelst B. coli auf Gärung geprüft werden; Indol enthält sie nicht, auch nicht Nitrit.

Smith macht für das Ausbleiben der Indolreaktion die Säurebildung aus Zucker verantwortlich, denn wenn er B. coli im Gärungsröhrchen züchtete, fand er, daß in dem geschlossenen Teil des U-Röhrchens, wo die Reaktion sauer blieb, kein Indol gebildet wird, während in dem offenen Teil, wo die Reaktion bald alkalisch wird, Indol nachzuweisen ist.

Germano und Maurea[3]) kamen auf Grund ihrer Untersuchungen zu der Ansicht, daß zur Trennung von Typhusbacillen aus Gemischen mit typhusähnlichen Bacillen die Indolreaktion wegen ihres inkonstanten Auftretens nur bedingten Wert habe. Fördernd für die Bildung von Indol wird von Salkowsky alkalische Reaktion, sowie Zusatz von Natriumkarbonat, Natriumphosphat und Magnesiumsulfat zur Nährlösung angegeben.

Bei meinen Untersuchungen über die Indolbildung der Bakterien ging ich von zwei Gesichtspunkten aus; erstens, einen möglichst günstigen Nährboden für die Bildung des Indols zu finden, und zweitens, festzustellen, ob in den in gleicher Weise bereiteten Nährflüssigkeiten die Fähigkeit der verschiedenen Bakterien Indol zu bilden konstant ist.

Als Nährflüssigkeiten wurden benutzt 1) Bouillon, aus Fleischsaft bereitet, der nach dem Filtrieren 1 Proz. Pepton und 0,5 Proz. Kochsalz zugefügt war, 2) diese Bouillon mit stärkerem Peptonzusatz und 3) wässerige Peptonlösungen mit verschiedenen Salzen. Zur Bereitung dieser letzteren Nährböden wurde das Pepton mit den Salzen im Wasser etwa ½ Stunde gekocht, filtriert und im Reagensröhrchen sterilisiert. Es wurde stets dasselbe Peptonpräparat „Peptonum siccum Witte-Rostock“ angewandt.

Um den Einfluß der Konzentration der Nährflüssigkeit festzustellen, impfte ich von einer aus Faeces gezüchteten Kultur von B. coli in verschiedene Nährmedien und prüfte nach 5-tägigem Aufenthalt der Kulturen im Brutschrank bei 37° auf Indol. Tabelle I gibt das verschieden starke Auftreten der Indolreaktion an, beurteilt nach der Intensität der Rotfärbung. Hierbei bezeichnet — negativ, + schwach positiv, ++ deutlich positiv, +++ stark positiv.

---

1) Gorini, Centralbl. f. Bakt. etc Bd. 13. p. 790.

2) Smith, Th., Journ. of exper. Med. Vol. 2, ref. n. Baumgarten. Bd. 13. p. 864.

3) Germano u. Maurea, Zieglers Beiträge. Bd. 12. Heft 3, ref. n. Baumgarten. Bd. 9. p. 215.

Tabelle I.

Nährflüssigkeiten	Indolreaktion
1) gewöhnliche Bouillon	+
2) 1-proz. Pepton-Kochsalzlösung[1])	+
3) 5-proz. Pepton-Kochsalzlösung[1])	+
4) 10-proz. Pepton-Kochsalzlösung[1])	++
5) 10-proz. Pepton- + 0,5proz. Natriumphosphatlösung + 0,1-proz. Magnesiumsulfatlösung	+++

Aus dieser Tabelle sieht man, daß eine 10-proz. Peptonlösung mit Zusatz von 0,5 Proz. Natriumphosphat und 0,1 Proz. Magnesiumsulfat am geeignetsten für die Anstellung der Indolreaktion ist.

In dieser Lösung prüfte ich die in Tabelle II zusammengestellten Kulturen aus der hiesigen Laboratoriumssammlung auf Indol. Die geimpften Reagensröhrchen blieben 8 Tage im Brutschrank bei 37°.

Tabelle II.

Kulturen		Indolreaktion	Kulturen		Indolreaktion
B. coli commune		+++	B. dysenteriae Gelsenkirchen I		—
„ coli S. 79	aus verschiedenen Stühlen gezüchtet	—	„ „ „ II		—
„ „ „ 85		—	„ „ 176		—
„ „ „ 83		—	„ „ 172		—
„ „ „ 64		++	„ „ 192		—
„ „ „ 81		+++	„ „ Rom 3a		—
„ paracoli		++	„ „ Wollers		—
„ morbificans bovis		—	„ „ Ha		—
„ morseelenensis		—	B. pseudodys. Wilz	Typus A[2])	—
„ breslaviensis Kaensche		—	„ „ Fischer		++
„ Kaensche Kiel		—	„ „ Salomon		—
„ caseolyticus		—	„ „ Schick		++
„ enteritidis Gärtner		—	„ „ Eckardt		—
„ pyocyaneus		—	„ „ Brandstätter		++
Staphylococcus aureus		—	„ „ Breidenbach		++
B. diphtheriae		—	„ „ Am	Typ. B	++
B. d. Fleischvergift. Abel		—	„ „ Flexner I		+
„ „ „ Trautmann		—	„ „ Flexner-Manila		+++
„ „ „ Hanstaedt		—	„ „ B_2 Typus C		+
„ „ „ Günther		—	„ „ A „ D		+
B. typhi 1		—	„ „ D—D Typus D		++
„ „ 2		—	„ „ Oberwesel Typ. E		—
B. paratyphi Seemann		—	„ „ Strong „ F		—
„ „ Hünermann		—	„ „ Kugelmayr		++
„ „ Brion-Kayser		—	„ „ Zimmermann		+
B. dysenteriae Foerster		—	„ „ Hielscher		—
„ „ Am		—	„ „ F		+
			„ „ Czaplewsky		++
			„ „ Baumayr		+++
			„ „ Bonn I		—

Die Bakterien der Fleischvergiftung, Paratyphus-, Typhus- und echte Ruhrbacillen hatten ohne Ausnahme kein Indol gebildet.

Von B. coli hatten 3 Stämme kein Indol gebildet, doch waren diese auch schon durch ihr sonstiges kulturelles Verhalten etwas von dem gewöhnlichen B. coli abweichend.

---

1) 0,5 Proz. Kochsalz.

2) s. Kruse, Rittershaus, Kemp u. Metz, Dysenterie und Pseudodysenterie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57.)

Auffallend war, daß die untersuchten Pseudodysenteriestämme keine Uebereinstimmung bezüglich der Indolbildung zeigten; so waren z. B. Salomon, Wilz, Eckhardt, Oberwesel, Hielscher negativ und Fischer, Schick, A positiv. Es war nun zu untersuchen, ob das Eintreten oder Ausbleiben der Indolbildung eine konstante Eigenschaft der betreffenden Stämme war und sich so die Pseudodysenteriekulturen in 2 Gruppen, als Indol- und Nichtindolbildner, trennen ließen, oder ob auch bei demselben Stamm die Fähigkeit, Indol zu bilden, eine wechselnde war.

Um zu prüfen, ob das Alter der Kultur und die Konzentration der Peptonlösung von Einfluß seien, impfte ich 3 Wochen alte und 24-stündige Kulturen in 2- und 10-proz. Peptonlösungen. Als Kontrolle nahm ich echte Dysenterie- und Typhusbacillen. Die Reaktion wurde, wenn nicht anders angegeben, immer nach 8 Tagen angestellt.

Tabelle III.

		2-proz. Pepton + 0,5-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	10-proz. Pepton + 0,5-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat
Wilz (A)	alt	++	++
	neu	++	++
Schick (A)	alt	++	++
	neu	++	++
Fischer (A)	alt	++	++
	neu	++	++
Höfflmayer (D)	alt	+	+++
	neu	+	+++
Baurmayr	alt	++	++
	neu	++	++
Czaplewsky	alt	++	+++
	neu	++	+++
B. dysenteriae Shiga	alt	—	—
	neu	—	—
„ „ Foerster	alt	—	—
	neu	—	—
„ typhi	alt	—	—
	neu	—	—

Wilz hatte dieses Mal Indol gebildet, ebenso alle anderen Pseudodysenteriestämme, Typhus und echte Ruhr dagegen niemals. Ein Unterschied zwischen Kulturen, die mit altem und jungem Impfmaterial beschickt waren, war nicht zu erkennen. In der 10-proz. Peptonlösung trat die Indolreaktion schöner ein, wie in der 2-proz. Lösung; das Wachstum war auch ein besseres.

In der folgenden Tabelle habe ich Versuche mit den Pseudodysenteriestämmen, die in der ersten Tabelle als negativ bezüglich der Indolbildung angegeben sind, zusammengestellt und dazu Stamm A, bei dem eine schwache Reaktion eingetreten war. Zur Kontrolle nahm ich B. coli commune. Ich verwandte wieder alte und neue Kulturen und impfte dieselben in Peptonlösungen von verschiedener Konzentration, sowohl betreffs des Peptons wie der Salze. Vor dem Impfen hatte ich mich durch Ausstreichen der verschiedenen Stämme auf Platten überzeugt, daß die Kulturen nicht verunreinigt waren.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Tabelle IV.

		alt	neu
	Wilz (A)		
10-proz. Pepton	1,0-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	++	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	++
5- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	++	++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	++
2- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	++	++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	++
	Salomon (A)		
10-proz. Pepton	1,0-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	—	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	—	++
5- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	—	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	—	—
2- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	—	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	—
	Eckhardt (A)		
10-proz. Pepton	1,0-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	—	++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	++
5- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	+	+
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	+	+
2- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	++	++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	—	+
	A (D)		
10-proz. Pepton	1,0-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	—	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	—	—
5- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	+?	+?
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	+?	+?
2- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	+?	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	+?	—
	Oberwesel (E)		
10-proz. Pepton	1,0-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	—	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	—	—
5- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	—	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	—	—
2- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	—	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	—	—
	Bonn I		
10-proz. Pepton	1,0-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	—	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	—
5- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	+	—
	0,5- „ „ + 0,1- „	+	—
2- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „	+	—
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	+	+
	Hielscher		
10-proz. Pepton	1,0-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	—	+++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	+++
5- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	++	++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	++
2- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	++	++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	++

		alt	neu
	B. coli commune		
10-proz. Pepton	1,0-proz. Natriumphosphat + 0,1-proz. Magnesiumsulfat	+++	+++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	+++	+++
5- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	++	++
	0,5- „ „ + 0,1- „ „	++	++
2- „ „	1,0- „ „ + 0,1- „ „	++	++
	0,5- „ „ + 0,1- „ ,	++	++

Die 5-proz. Peptonlösung gab manchmal eine schlechtere Reaktion wie die 2- und 10-proz. Lösung. Bei 2 Proz. war die Reaktion vereinzelt nicht klar, insofern negative Lösungen zuweilen eine ganz leichte Rosafärbung erkennen ließen. Das Wachstum war am besten in der 10-proz. Lösung mit Zusatz von 0,5-proz. Natriumphosphat und 0,1-proz. Magnesiumsulfat; hier war auch meist die schönste Reaktion. Ueberhaupt war in alten Peptonlösungen die Entwickelung der Bakterien bei Zusatz von 0,5-proz. Natriumphosphat besser wie bei 1-proz. Die alten und neuen Kulturen unterschieden sich regellos.

Wir können aus den bisherigen Versuchen erkennen, daß bei den Pseudodysenteriestämmen keine Regelmäßigkeit in bezug auf Indolbildung besteht.

Beim nächsten Versuch hatte ich die Stämme Wilz und Salomon von derselben Gelatinekultur in je 10 Reagensröhrchen, die mit der 10-proz. Peptonlösung[1]) ganz gleichmäßig gefüllt waren, geimpft. Nach 8 Tagen war bei Wilz in allen Röhrchen die Indolreaktion deutlich. Salomon hatte in 4 Röhrchen Indol gebildet, in 6 nicht.

Ich impfte nun von einer Gelatineplatte von Salomon 12 isolierte Kolonieen in je ein Reagensröhrchen mit 10-proz. Peptonlösung. Von diesen war in einem nach 8 Tagen Indol gebildet, in den anderen 11 nicht. Vor Anstellung der Reaktion hatte ich von diesen 12 Röhrchen in neue 12 entsprechend den ersten geimpft und von hier nach weiteren 8 Tagen nochmals in 12 neue. In diesen letzten 24 Kulturen war kein Indol nachweisbar.

Für das unregelmäßige Eintreten der Indolreaktion bei den Pseudodysenteriestämmen war eine Erklärung nicht zu finden. Ein Einfluß des Nährbodens war nicht anzunehmen, da dieser auf das sorgfältigste und immer in gleicher Weise von mir selbst bereitet wurde. Es muß demnach wohl das wechselnde Vermögen, Indol zu bilden, als eine Eigentümlichkeit der Pseudodysenteriebacillen angesehen werden.

Bei einem neuen Versuch impfte ich 5 aus verschiedenen Faeces frisch isolierte Stämme von B. coli, C_1—C_5, in gewöhnliche Bouillon und 10-proz. Peptonlösung. Nach 8 Tagen hatte in Bouillon nur C_4, in der 10-proz. Peptonlösung alle mit Ausnahme von C_5 Indol gebildet. Die Bouillon war daher zur Anstellung der Indolreaktion nicht zu gebrauchen.

Wahrscheinlich lag dies an einem geringen Traubenzuckergehalt der Nährlösung. Denn bei Bereitung des Fleischsaftes wird wohl meist etwas Traubenzucker aus dem Fleisch in die Lösung übergehen, und kann ein wechselnder Gehalt hieran von Bedeutung sein, wie ja auch Kruse und Gorini angeben. Um den Einfluß des Traubenzuckers

---

1) Für die folgenden Versuche ist stets diese Lösung mit 0,5-proz. Natriumphosphat und 0,1-proz. Magnesiumsulfat gemeint.

auf das Nichteintreten der Indolbildung zu untersuchen, fügte ich zu je 10 ccm einer neuen Bouillon mit 5-proz. Peptonzusatz, in welcher C_2 stark Indol gebildet hatte, 0,02, 0,04, 0,06, 0,08 und 0,1 g Traubenzucker und impfte in diese verschiedenen Lösungen C_2. In keinem dieser Reagensröhrchen konnte Indol nachgewiesen werden, während die Kontrolle eine kräftige Reaktion ergab. Die Pseudodysenteriestämme Wilz, Eckhardt, Salomon, A und Bonn I zeigten in derselben 5-proz. Peptonbouillon (ohne Traubenzucker) deutliche Indolbildung.

Um nun diese Fehlerquelle, nämlich eventuelles Vorhandensein von Traubenzucker, auszuschalten, stellte ich mir, veranlaßt durch die Arbeit von Smith, eine Reihe von Bouillonnährböden her, zu deren Bereitung verschieden vorbehandeltes Fleisch benutzt wurde.

1) In der gewöhnlichen Weise bereitete Bouillon. B.

2) Dieselbe mit 5 Proz. Pepton. 5 Proz. B.

3) Das zerkleinerte Fleisch mit Wasser übergossen und 24 Stunden im Brutschrank bei 37° aufbewahrt; dann in der üblichen Weise zur Nährbouillon bereitet. FB.

4) Diese Bouillon mit 5 Proz. Pepton. 5 Proz. FB.

5) Das zerkleinerte Fleisch 2×24 Stunden unter Wasser im Eisschrank aufbewahrt, dann zur Bouillon bereitet. EB.

6) Diese mit 5 Proz. Pepton. 5 Proz. EB.

Auf die nach der Methode von Smith bereitete Bouillon werde ich unten noch zurückkommen.

In diese 6 verschiedenen Nährmedien impfte ich die Coli-Kulturen C_1—C_5 und die zuletzt benutzten Pseudodysenteriestämme. Die Prüfung auf Indol ergab bei C_5 nirgends positive Reaktion. Die übrigen Coli-Stämme C_1—C_4 zeigten übereinstimmend bei FB ganz schwache, bei EB und B etwas bessere, doch auch noch schwache, bei 5 Proz. FB deutliche und bei 5 Proz. B und 5 Proz. EB starke Reaktion. Ueber das Verhalten der Pseudodysenteriestämme gibt Tabelle V eine Uebersicht.

Tabelle V.

	B	5 Proz. B	FB	5 Proz. FB	EB	5 Proz. EB
Salomon	—	—	—	++	+	+
Eckhardt	+	++	+	+	+	++
Wilz	—	++	++	++	++	++
Bonn I	—	—	+	—	—	—
A	+	++	++	++	++	++

Eine Wiederholung dieses letzten Versuches mit den Pseudodysenteriestämmen, wobei statt der gewöhnlichen Bouillon 10-proz. Peptonlösung genommen wurde, ergab:

Tabelle VI.

	10 Proz. P	5 Proz. B	FB	5 Proz. FB	EB	5 Proz. EB
Salomon	++	—	—	++	+	++
Eckhardt	++	—	++	++	++	++
Wilz	++	—	++	++	++	++
Bonn I	++	—	++	++	+	++
A	++	—	++	++	++	++

Das Wachstum der verschiedenen Bakterien war in FB schlecht, in den anderen Nährmedien dagegen gleichmäßig gut. Der Coli-Stamm

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

C_5 hatte weder dieses Mal noch bei den früheren Versuchen Indol gebildet, so daß man ihn wohl zu den Nicht-Indolbildnern rechnen muß. Die beste Indolreaktion gaben die Nährböden, denen 5 Proz. Pepton zugesetzt war; bei den übrigen war ein großer Unterschied bezüglich der Indolbildung nicht zu konstatieren. Vielleicht scheint das 48 Stunden lange Aufbewahren des Fleischinfuses im Eisschrank vor der Bouillonbereitung einen günstigen Einfluß auszuüben, da auch schon in der EB ohne 5-proz. Pepton immerhin eine bessere Reaktion erzielt wurde, wie in B und FB. Bei letzterer, bei der das Fleischinfus 24 Stunden bei 37° ausgefault war, resp. vergoren hatte, ist wohl das schlechte Wachstum der darin eingeimpften Bakterien hindernd für die Indolbildung. Die Pseudodysenteriestämme zeigten auch in diesen Versuchen ein sehr unregelmäßiges Verhalten. In denselben Nährböden geben sie das eine Mal eine positive, das andere Mal wieder negative Reaktion.

Da das bisher gefundene inkonstante Verhalten der Dysenteriebacillen in bezug auf die Indolbildung doch sehr interessant ist, untersuchte ich noch verschiedene Kulturen von Pseudodysenteriebacillen, die im Sommer 1904 im hiesigen Institut aus dysenterieverdächtigen Stühlen isoliert worden waren. Diese impfte ich zusammen mit den schon früher untersuchten dieses Mal in Bouillon, die nach dem im Anfang dieser Arbeit beschriebenen Rezept von **Smith** bereitet war, mit 5 Proz. Peptonzusatz, und in gewöhnlicher Weise bereitete Bouillon mit 5 Proz. Pepton. Von jeder Bouillon wurden je 2 Röhrchen geimpft und nach 10 Tagen auf Indol untersucht. Die folgende Tabelle gibt eine Uebersicht über die Indolbildung.

Tabelle VII.

		Bouillon nach Smith mit 5 Proz. Pepton		Bouillon mit 5 Proz. Pepton	
		a	b	a	b
Salomon	Typus A	+	+	+	++
Eckardt	„	—	+	—	—
Wilz	„	+	+	+	+
Breidenbach	„	+	+	+	+
Brandstätter	„	++	+	+	+
Fischer	„	+	+	+	+
Gruppe	„	—	—	—	—
Muths	„	—	—	+	—
am	Typus B	+	+	+	++
Flexner	„	+	+	+	+
Flexner Manila	„	+	+	++	+++
Klinik	Typus C	+	+	+	+
B_2	„	+	+	+	+
A	Typus D	+	+	+	+
Höfflmayr	„	++	+	+	++
Schumacher	„	—	—	—	—
Poliklinik	„	+	—	—	—
Oberwesel	Typus E	—	—	—	—
Löscher	„	—	—	—	—
Elise	„	—	—	—	—
Ronsdorf	„	—	—	—	—
Strong	Typus F	—	—	—	—
Röder		—	—	—	—
Pseudodysenterie III		++	+	+++	++
Pseudodysenterie		—	—	—	—

In der Bouillon nach Smith waren die Bakterien bedeutend schlechter gewachsen wie in der gewöhnlichen 5-proz. Peptonbouillon. Die Indolreaktion war allerdings in 2 Fällen, Eckhardt und Poliklinik, positiv, während sie in den letzten Nährböden negativ war, aber auch nur in je einem Röhrchen, so daß man zweifelhaft ist, ob die Bakterien oder der Nährboden daran schuld sind. Im übrigen war die Indolreaktion bei der 5-proz. Peptonbouillon fast durchweg stärker; in der ersten Bouillon war sie öfter so schwach, daß man schwanken konnte, ob man sie positiv oder negativ bezeichnen sollte.

In diesen fraglichen Fällen wurde das betreffende Röhrchen jedesmal mit Amylalkohol ausgeschüttelt, wobei sich nach einiger Zeit der Amylalkohol, leicht rosa gefärbt, an der Oberfläche absetzte.

Die letzte Tabelle bestätigt uns das auch früher Gefundene, insofern die neu isolierten Pseudodysenteriestämme genau dasselbe unregelmäßige Verhalten bezüglich der Indolbildung erkennen lassen, wie die früheren. Die einen bilden Indol, die anderen nicht; ja in demselben Nährboden ist die Reaktion in dem einen Röhrchen positiv, in dem anderen negativ (Poliklinik und Muths).

In den früheren Versuchen hatten die Bakterien der Typhusgruppe (Typhus, Paratyphus, Fleischvergiftung) und die der echten Dysenterie stets eine negative Indolreaktion ergeben, so daß bei diesen das Fehlen der Reaktion zur Bestätigung der Diagnose beitragen kann. Nach Morris[1]) sollen aber auch die bisher als Nicht-Indolbildner bekannten Bakterien, wie Typhus-, blaue Milch-, Pyocyaneus-Bacillen und andere eine vollkommen deutliche Indolreaktion nach 10- bis 20-tägigem Wachstum in Bouillon mit 5-proz. Peptonzusatz geben. Es sei die Fähigkeit Indol zu bilden, unter den Bakterien weiter verbreitet, als man bisher angenommen habe. Morris schließt aus seinen Untersuchungen, daß, wenn auch die Typhusbacillen in 5-proz. Peptonbouillon Indol bildeten, doch an der oft bestätigten Tatsache, daß diese Bakterien in der gewöhnlichen Bouillon mit 1 Proz. Peptongehalt in 1 bis 2 Tagen kein Indol bildeten, und an der diagnostischen Bedeutung dieser Tatsache nichts geändert würde.

Obwohl ich nun früher auch bei 8-tägigem Wachstum bei Typhus kein Indol nachweisen konnte, hielt ich doch eine genaue Nachprüfung der Untersuchungen von Morris für nötig. Ich impfte zu dem Zwecke von 24 Stunden alten Kulturen in frisch bereitete Bouillon mit 5 Proz. Peptonzusatz und prüfte nach 10-tägigem Wachstum auf Indol, da Morris selbst angibt, daß bei 20-tägigem Wachstum die Resultate dieselben wie bei 10-tägigem seien, und es daher unnötig wäre, länger als 10 Tage zu kultivieren. Ich impfte immer je 2 Röhrchen. Zur Kontrolle, ob die Bouillon auch gut zur Indolbildung geeignet war, nahm ich B. coli com. Ich nahm nicht alle von Morris geprüften Bakterien, da diese mich weniger interessierten, sondern außer Typhus nur noch blaue Milch und Pyocyaneus, und Paratyphus und Dysenterie, die Morris noch nicht geprüft hatte. In Tabelle VIII sind die diesbezüglichen Untersuchungen zusammengestellt.

---

[1]) Morris, Archiv für Hygiene. Bd. 30. p. 304.

Tabelle VIII.

	a	b
B. coli com.	++	++
B. typhi	—	—
B. paratyphi Korte	—	—
B. paratyphi Brion-Kayser	—	—
B. dysenteriae Foerster	—	—
B. der blauen Milch	—	—
B. pyocyaneus	—	—

Die Kulturen wurden nach Anstellung der Reaktion sämtlich mit Amylalkohol ausgeschüttelt; derselbe blieb mit Ausnahme des B. coli vollkommen ungefärbt.

Die Pyocyaneus-Kulturen gaben auf Zusatz von Natriumnitrat und Schwefelsäure eine rote Reaktion. Da jedoch keine Spur des roten Farbstoffes in Amylalkohol überging, was bei der Indolreaktion geschehen muß, so kann man die hier beobachtete Reaktion nicht als Indolreaktion auffassen. Es handelt sich hier wohl um eine Reaktion des Pyocyanin mit Schwefelsäure, die bekanntlich auch einen roten Farbstoff gibt.

Eine Indolbildung durch Typhus-, Paratyphus- und Ruhrbacillen war nach dem letzten Versuch auch so nicht nachzuweisen. Da es sich nun doch vielleicht um ganz geringe Indolmengen handelt, die in 10 ccm Lösung dem Auge nicht sichtbar zu machen sind, ging ich in meinem nochmaligen Versuch nach Lewandowsky[1]) vor, welcher 250 ccm Kulturflüssigkeit überdestillierte und das Destillat auf Indol prüfte. Bei Typhus konnte Lewandowsky kein Indol nachweisen. Lewandowsky säuerte die Kulturflüssigkeit vor dem Destillieren mit starker Salzsäure an, was ich nicht für nötig, ja sogar störend halte. In einem Vorversuch teilte ich nämlich 250 ccm Kulturflüssigkeit — 5-proz. Peptonbouillon —, die 10 Tage vorher mit Typhus geimpft war, und in der vor dem Destillieren kein Indol nachweisbar war, in zwei Hälften. Die eine destillierte ich so über, die andere, nachdem ich sie mit Salzsäure stark angesäuert hatte. In den ersten 10 ccm des alkalischen Destillats war eine Spur Indol nachzuweisen, in dem saueren Destillat nichts. Ich destillierte deshalb bei den weiteren Versuchen stets ohne anzusäuern über. Das Indol destilliert sehr leicht über und ist deshalb in dem ersten Teil des Destillats am besten zu finden. Bei Typhus war in der zweiten Fraktion des Destillats (es wurden immer je 10 ccm aufgefangen) schon keine positive Indolreaktion mehr zu erkennen. Wir sehen hieraus, daß auch Typhusbacillen ganz geringe Mengen Indol zu bilden vermögen, daß der Nachweis desselben aber nur durch Destillieren von größeren Kulturmengen gelingt. Ich impfte jetzt in eine Reihe von Erlenmeyer-Kolben, die teils mit der nach Smith bereiteten, teils mit gewöhnlicher Bouillon — beide mit 5 Proz. Peptonzusatz — zu je 250 ccm gefüllt waren, die folgenden Bakterien:

1) B. coli com.;
2) B. dysenteriae Foerster;
3) B. pseudodysenteriae Oberwesel, der bisher noch nie Indol gebildet hatte;
4) B. pseudodysenteriae Gruppe, der nach der Tabelle VII kein Indol gebildet hatte;
5) B. pseudodysenteriae Eckhardt, der nach der Tabelle VII nur in einem Reagensröhrchen Indol gebildet hatte;
6) B. typhi;
7) B. paratyphi Brion-Kayser.

---

1) Lewandowsky, Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 51.

Von diesen Bakterien wurden vorher Agarplatten angelegt, um sie auf ihre Reinheit zu prüfen, und von isolierten Kolonieen die Kolben geimpft. In die 5-proz. Peptonbouillon nach Smith wurden B. coli, Eckhardt, Typhus und Paratyphus, und in die gewöhnliche 5-proz. Peptonbouillon B. coli, Eckhardt, Foerster, Oberwesel und Gruppe geimpft.

Zur Kontrolle, ob nicht schon ohne weiteres minimale Mengen von Indol in der Bouillon vorhanden waren, wurde sofort je ein Kolben mit den beiden Nährböden überdestilliert und nach 10 Tagen nochmals 2, die mit den geimpften bei 37° aufbewahrt worden waren. Es konnte in keinem der Kolben Indol nachgewiesen werden.

Die geimpften Kolben wurden einen Tag vor dem Destillieren, nach 9-tägigem Wachstum bei 37°, durch Ausstreichen einer Platinöse auf Milchzuckeragarplatten auf ihre Reinheit geprüft. Eine Verunreinigung war in keinem Kolben eingetreten. Kurz vor dem Destillieren wurden von jedem Kolben in Reagenzröhrchen je 10 ccm gefüllt und mit diesen die Indolreaktion angestellt, deren Ergebnis in der folgenden Tabelle zusammengestellt ist.

Tabelle IX.

	5-proz. Peptonbouillon nach Smith	5-proz. Peptonbouillon
B. coli com.	++	++
B. dysent. Foerster		—
B. pseudodys. Eckhardt	—	—
B. „ Oberwesel		—
B. „ Gruppe		+
B. typhi	—	
B. paratyphi Brion-Kayser	—	

Hier gibt Gruppe entgegen der Tabelle VII eine positive Reaktion.

Die Kolben wurden jetzt nacheinander überdestilliert und mit den ersten 10 ccm des Destillats die Indolreaktion angestellt. Die weiteren Fraktionen wurden auch auf Indol geprüft, wobei in den positiven Röhrchen eine schnelle Abnahme der Intensität der Reaktion bemerkt wurde; so war bei B. coli, nachdem etwa 80—100 ccm überdestilliert waren, in dem weiteren Destillat kein Indol mehr nachweisbar. Das Ausfallen der Reaktion der ersten 10 ccm ist in Tabelle X zusammengestellt.

Tabelle X.

	5-proz. Peptonbouillon nach Smith	5-proz. Peptonbouillon
B. coli com.	+++	+++
B. dysenteriae Foerster		—
B. pseudodys. Eckhardt	—	+
B. „ Oberwesel		—
B. „ Gruppe		++
B. typhi	—	
B. paratyphi Brion-Kayser	—	

In der Bouillon nach Smith hatte Typhus kein Indol gebildet, während oben in dem Kolben mit 5-proz. Peptonbouillon eine Spur Indol zu finden war. Ebenso hatte Eckhardt nur in der letzteren Bouillon geringe Mengen Indol gebildet, was ein Beweis dafür ist, daß die 5-proz. Peptonbouillon geeigneter zur Anstellung der Indolreaktion

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

ist, wie die Smithsche Bouillon. Gruppe hatte reichlich Indol gebildet, was als weitere Bestätigung des inkonstanten Verhaltens der Pseudodysenteriebacillen gelten kann. Echte Ruhr und Paratyphus ließen auch in dem letzten Versuch keine Indolbildung erkennen.

Wir haben aber doch gesehen, daß die Typhusbacillen imstande sind, Indol zu bilden, dessen Mengen allerdings so gering sind, daß sie bei der gewöhnlichen Anstellung der Reaktion dem Auge nicht sichtbar zu machen sind, daher auch dem diagnostischen Wert der Indolreaktion bei Unterscheidung von Coli-Bacillen keinen Abbruch tun.

Im übrigen bestätigen die zuletzt gefundenen Resultate die früheren Untersuchungen, deren Ergebnisse wir im folgenden zusammenfassen können:

Zusammenfassung.

1) Die zur Anstellung der Indolreaktion geeignetste Nährflüssigkeit ist 10-proz. Peptonlösung mit Zusatz von 0,5 Proz. Natriumphosphat und 0,1 Proz. Magnesiumsulfat.

2) Die in gewöhnlicher Weise bereitete 1-proz. Peptonlösung ist wegen des unter Umständen im Fleischsafte enthaltenen Traubenzuckers nicht geeignet. Bouillon mit 5-proz. Peptonzusatz gibt aber im allgemeinen eine gute Reaktion.

3) Bouillon, zu deren Bereitung vorher der Fäulnis oder Gärung unterworfenes Fleisch benutzt wurde, gibt kein besseres Resultat.

4) Bei Paratyphus- (Enteritidis), echten Dysenteriebacillen und einigen Pseudodysenteriestämmen wurde niemals eine positive Reaktion beobachtet. Die Typhusbacillen können geringe Mengen Indol bilden, deren Nachweis aber nur in größeren Kulturmengen durch Destillation gelingt.

5) Die große Mehrzahl der Pseudodysenteriebacillen zeigt ein sehr unregelmäßiges Verhalten bezüglich der Indolbildung, insofern sie auf denselben Nährböden und unter gleichen Bedingungen einmal Indol bilden, das andere Mal nicht.

Nachdruck verboten.

Ueber die Erzeugung von tuberkulösen Lungenkavernen im Tierexperiment und deren Bedeutung.

Von Prof. **E. Levy**, Straßburg i. E.

Von verschiedenen Seiten ist man in den letzten Jahren der Frage näher getreten, ob und wie es gelingt, im Tierexperiment diejenige Form der Tuberkulose hervorzurufen, die man mit der sogenannten Lungenschwindsucht des Menschen und ganz besonders mit der Kavernenbildung vergleichen darf. Während letzteres Krankheitsbild beim Menschen ja so überaus häufig vorkommt, sehen wir im Tierexperiment nach der in der klassischen Weise vorgenommenen künstlichen Impfung mit virulenten Tuberkelbacillen in der Regel einen rasch sich verallgemeinernden

Krankheitsprozeß sich entwickeln. Troje und Tangl[1]) (bei Baumgarten) erzeugten wohl als die ersten beim Kaninchen tuberkulöse Veränderungen, die man der menschlichen Lungenphthise mit ihren Kavernen an die Seite stellen durfte. Sie erreichten dies durch Abschwächung der infizierenden Tuberkelbacillen vermittelst Jodoform. v. Baumgarten[2]) selbst erzielte dann bei seinen Versuchstieren Lungenkavernen mit typischem Sitz in den Lungenspitzen, indem er virulente Tuberkelbacillen von der unverletzten Harnröhre und Harnblase aus in den Organismus einführte. Er betonte, daß hierbei nur ein allmählicher und vereinzelter Bacillenimport stattfindet und infolgedessen die Prädilektion der Lungenspitzen, das Steckenbleiben der in der Blutbahn kreisenden Bacillen in den Gefäßen der weniger gut ventilierten Spitzen, zur Geltung kommen kann. Aronson[3]) versuchte eine Ziege mit steigenden Dosen Alttuberkulin zu immunisieren (2—50 ccm). Er injizierte dann dem Tiere steigend 30, 50, 100, 150, 200 ccm Tuberkelbacillenglyzerinbouillonkultur subkutan. Die Ziege ging unter Fieber und Husten zugrunde und zeigte bei der Autopsie das deutliche Bild der Phthise, mehrere Kavernen, eine besonders große im Oberlappen etc. etc. Aronson betonte, daß zwar R. Koch bereits 1884 einen Fall von spontaner Phthise bei der Ziege beschrieben habe, daß jedoch in seinem Falle keine Tuberkulose dem Versuch vorausgegangen sei, da auf die Tuberkulineinspritzungen keine Reaktion sich eingestellt habe. v. Behring[4]) hat bei Ziegen und auch bei anderen Tieren ein der menschlichen Lungenschwindsucht ganz ähnliches Krankheitsbild erzeugt, indem er durch lange Vorbehandlung eine Immunität mäßigen Grades hervorrief und hinterher ein kräftiges Virus einverleibte. Neufeld[5]), A. Weber und Titze[6]) kamen bei der Ziege zu ähnlichen Resultaten. Die beiden letzteren Autoren machen ausdrücklich darauf aufmerksam, daß infolge der jetzt geübten Immunisierung der Rinder bei der Nachimpfung mit Perlsuchtbacillen chronische Krankheitsformen entstehen, die man bei der gewöhnlichen Impftuberkulose nicht sieht, tuberkulöse Affektionen des Gehirns und seiner Häute, der Augen, der Geschlechtsorgane. Sie weisen auf die ähnlichen Beobachtungen von Mc. Fadyean, Pearson, Arloing hin. Orth und Lydia Rabinowitsch[7]) fanden bei Meerschweinchen, die von Friedmann mit Schildkrötentuberkelbacillen vorbehandelt waren, nach Einverleibung von virulentem Material häufig Erscheinungen von richtiger Lungenschwindsucht mit Kavernenbildung. Sie lassen wohl hierfür die Krankheitsdauer eine wesentliche Rolle spielen, glauben jedoch nicht, daß dem chronischen Verlauf allein dieser Befund zuzuschreiben sei, sondern nehmen auch eine Beteiligung der Vorbehandlung bei diesem Resultate an. In Gemeinschaft mit Blumenthal und Marxer habe ich[1]) besonders bei vorbehandelten Tieren, aber auch bei Kontrollen die Kavernenbildung wiederholt beobachtet. Wir fassen dieselbe als einen indirekten Effekt der Behandlung auf und neigen zu der Ansicht hin, daß sie in Zusammenhang mit dem in diesen Fällen langsamen Verlauf der Meerschweinchentuberkulose steht. Diese Chronizität kann abhängig sein von der erhöhten Widerstandskraft der behandelten Tiere oder aber bei frischen Meerschweinchen von der Einführung ganz kleiner Mengen virulenter Bacillen, die sich der einfach tödlichen Dose nähern. Auch mit abgeschwächten Tuberkelbacillen erzielt man dieselben Resultate. Zu den oben erwähnten Versuchen von Troje und Tangl, bei denen Jodoform als Abschwächungsmittel diente, kann ich eigene hinzufügen, aus denen hervorgeht, daß man mit Tuberkelbacillen, die vermittelst 80 Proz. Glyzerin (in der Konzentration 5 mg Bac. zu 4 ccm Glyzerinlösung) 24 Stunden bei 37° abgeschwächt wurden, bei Meerschweinchen Erkrankungsformen hervorrufen kann, die mit denjenigen beim Menschen völlig zu vergleichen sind. Bartel und Neumann[2]) sahen bei den nach ihrer Methode vorbehandelten und dann geprüften Tieren zum Teil eine vorherrschende chronische Tuberkulose der Bronchialdrüsen und Lungen mit Kavernenbildung in letzteren. P. H. Römer[3]) gelang es auf zweierlei Weise echte kavernöse Lungentuberkulose beim Meerschweinchen zu erzeugen. Einmal mit Hilfe schwach virulenter oder künstlich abgeschwächter Tuberkelbacillen, die eine ganz chronische Infektion nach sich zogen, dann „durch eine künstliche massive Neuinfektion bereits chronisch tuberkulöser Tiere, bei denen wir nach Neuinfektionen mit kleinerer Tuberkelbacillendosis völlige Immunität finden“. Der erstere Modus soll nach Römer noch zu den Ausnahmen gehören. Kretz[4]) betonte, daß eine langsame Infektion im Tierexperiment zu einer mit der menschlichen Phthise vergleichbaren Lungeneinschmelzung führen kann. Die Krankheit entsteht in solchen Fällen infolge einer Infektion, die nur eine geringe Anzahl von Metastasen im Gefolge hat. Hierzu kann die geringe Menge der eingeführten Bacillen oder aber eine erworbene Steigerung der Resistenz Veranlassung geben. Die mitgeteilten fremden und eigenen Untersuchungen berechtigen also zu der Schlußfolgerung, daß das Auftreten von tuberkulösen Lungenerkrankungen mit Einschmelzungserscheinungen, die der menschlichen Phthise gleichzustellen sind, bei behandelten Tieren als eine Erhöhung der Widerstandskraft gegenüber der tuberkulösen Infektion aufgefaßt werden dürfen. Diese Tiere, die an kavernöser Phthise langsam zugrunde gehen, erlangen infolge der Behandlung gegenüber der Infektion eine gewisse Resistenz, die sie zwar nicht völlig schützen kann, aber ihnen doch eine so weit reichende erhöhte Widerstandskraft verschafft, daß es nicht zur miliaren Tuberkulose kommt, an der die Kontrollen meist zugrunde gehen. Mit diesen Verhältnissen muß man bei der experimentellen Lösung der Frage nach der Schutzimpfung und Behandlung der Tuberkulose unbedingt rechnen. Besonders beim Meerschweinchen, das sich ja so hoch empfänglich gegenüber der künstlichen Infektion mit Tuberkelbacillen erweist, wird man sich in den meisten Fällen mit dieser relativen Immunität begnügen müssen. Es gelingt ja Meerschweinchen auch gegen eine 10-fache tödliche Dose von Tuberkelbacillen voll und ganz zu immunisieren, aber dieser Erfolg, mit dem man sehr zufrieden sein muß, gehört immerhin zu den Seltenheiten. In letzter Zeit sind übrigens meine hierher gehörenden Glyzerinimmunisierungsexperimente beim Meerschweinchen durch Ed. Hawthorn[1]) bestätigt worden. Die bei der Tuberkuloseschutzimpfung und -behandlung gewonnenen Erfahrungen sind entschieden noch nicht bekannt genug. Wie sollte man es sonst begreifen, daß ein so vortrefflicher Autor wie Besredka[2]) die Beziehungen der Kavernenbildung zur Resistenzerhöhung mit einigen ironischen, geistreich sein sollenden Bemerkungen abtun zu dürfen glaubt. Man könnte hier direkt den Eindruck gewinnen, daß Besredka sich niemals mit therapeutischen und prophylaktischen Fragen bei Tuberkulose beschäftigt hat.

---

[1] Troje und Tangl, Ueber die antituberkulöse Wirkung des Jodoforms und über die Formen der Impftuberkulose bei Impfung mit experimentell abgeschwächten Tuberkelbacillen. (Arbeiten auf d. Gebiete d. pathol. Anat. u. Bakteriol. aus d. pathol.-anat. Institut z. Tübingen. Bd. 1. H. 1.)

[2] v. Baumgarten, Ueber experimentelle Lungenphthise. (Verhandl. d. Deutsch. pathol. Gesellsch. 4. Tagung. 1901.)

[3] Aronson, Experimentell erzeugte Phthise bei einer Ziege. (Berlin. klin. Wochensch. 1896. p. 130. Verhandl. d. Berlin. Mediz. Gesellsch.).

[4] v. Behring, Beiträge zur experimentellen Therapie. H. 8. Tuberkuloseentstehung, Tuberkulosebekämpfung u. Säuglingsernährung. H. 11. Moderne phthisiogenet. u. phthisiotherapeut. Probleme in histor. Beleuchtung.

[5] Neufeld, Ueber Immunisierung gegen Tuberkulose. (Deutsch. med. Wochenschr. 1903. No. 37.)

[6] Weber, A. und Titze, Die Immunisierung der Rinder gegen Tuberkulose. (Tuberkulosearb. a. d. Kais. Gesundheitsamt. H. 7. 1907.)

[7] Orth, J. und Rabinowitsch, Lydia, Zur Frage der Immunisierung gegen Tuberkulose. (Virchows Arch. Beiheft zum 190. Bd. Tuberkulosestudien.)

---

[1]) Levy, E., Blumenthal, Franz, und Marxer, A., Experimentelle Untersuchungen über Tuberkulose. 2. Mitteilung. (Centralbl. f Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd 47.)

[2]) Bartel und Neumann, Ueber Immunisierungsversuche gegen Tuberkulose. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 48.)

[3]) Römer, P. H., Ueber experimentelle kavernöse Lungentuberkulose. (Berlin. klin. Wochenschr. 1909. N. 18.)

[4]) Kretz, Ueber Phthiseogenese. (Wissenschaftl. Gesellsch. deutsch. Aerzte in Böhmen. Referat Deutsch. med. Wochenschr. 1909. Bd. 20.)

Für die Phthiseogenese beim Menschen beanspruchen die erörterten Experimente eine große Bedeutung. Es muß, worauf in letzter Zeit wieder P. H. Römer aufmerksam machte, unbedingt die Berechtigung der v. Behringschen Anschauung, wie wir glauben zum mindesten wohl die Möglichkeit zugegeben werden, daß ein großer Teil der Tuberkuloseerkrankungen der Menschen deswegen unter dem Bilde der Phthise verläuft, weil die betreffenden Individuen früher, in der Regel in ihrer Kindheit, irgendeine tuberkulöse Erkrankungsform sich zugezogen haben. Erfolgt unter diesen Umständen eine Zweitansteckung, sei es von außen her oder, womit man ja gleichfalls rechnen muß, durch Autoinfektion, durch Metastasenbildung von den Resten des oder der ersten Krankheitsherde her, so trifft dieselbe einen bereits umgestimmten, in vielen Fällen durch den ersten Krankheitsanfall viel resistenzfähiger gewordenen Organismus. Und auch hier ist die kavernöse Erkrankungsform ein Beweis für die erhöhte Resistenz.

---

1) Hawthorn, Ed., Le bacille de Koch, en émulsion dans la glycérine. Effets de ces émulsions sur les cobayes. (Compt. rend. Soc. biol. 1909. p. 364.)

2) Besredka, Bulletin Institut Pasteur. 1908. p. 1043.

Nachdruck verboten.

Ueber die Umwandlungshypothese und Lebensdauer des Tuberkelbacillus.

[Aus dem Institut Iosioyen in Tokio (Direktor: Prof. Dr. S. Kitasato).]

Von Dr. **Gozo Moriya**, Tokio.

Im Jahre 1901 hat R. Koch im Londoner Tuberkulosekongreß über die Nichtidentität der Menschen- und Rindertuberkulose vorgetragen, die menschlichen Tuberkelbacillen stellen sich für Rinder etc. als ein abgeschwächtes Virus dar. Koch hat bekanntlich auch gefunden, daß die einzelnen Arten der Tuberkelbacillengruppe (Perlsucht, Vogeltuberkulose etc.) sich in bezug auf den Gehalt an denjenigen Stoffen, welche von dem agglutinierenden Serum aufgenommen werden, einander so nahe stehen, daß eine Unterscheidung mit Hilfe der Agglutination nicht möglich ist. Es werden demnächst mehrere Arbeiten über die immunisatorischen Beziehungen zwischen den einzelnen Arten der Tuberkelbacillengruppe veröffentlicht.

Zwecks Immunisierung der Rindertuberkulose wurden von Behring, Neufeld, Pearson, Gilliland, Koch, Schütz, Miessner, Baumgarten, Thomassen, Klimmer etc. die menschlichen Tuberkelbacillen angewandt. Macfadyean versuchte auch, mit Hühnertuberkelbacillen die Rinder zu immunisieren.

Terre gelang es nicht, mit Fischtuberkelbacillen Meerschweinchen zu immunisieren. Denselben Versuch hat Morey später ebenfalls ohne Erfolg ausgeführt. Die Immunisierungsversuche von Dieudonné mit einer durch Passage von Menschentuberkelbacillen im Froschkörper gewonnenen, unter 30° wachsenden Kultur verliefen negativ. Klemperer fand, daß die Einverleibung der säurefesten Saprophyten einen schwächenden und hemmenden Einfluß auf die tuberkulöse Infektion der Versuchstiere ausübte und einen Schutz gegen dieselbe gewährte. Nach dem Bericht von Friedmann soll es ihm gelungen sein, mit einem aus der kranken Lunge einer Schildkröte herausgezüchteten Tuberkelbacillus Meerschweinchen und Rinder gegen Säugetiertuberkulose zu immunisieren. Diese Angabe wurde jedoch durch die Beobachtungen von Ribbertz und Ruppel erschüttert und durch den Nachversuch von Orth und Rabinowitsch völlig widerlegt. Moeller ist bei seinen Schutzimpfungsversuchen mit säurefesten Saprophyten (Timotheebacillus, Milchbacillus, Grasbacillus, Smegmabacillus, Blindschleichenbacillus, Mistbacillus, Pseudoperlsuchtbacillus), wo er außer Versuchstieren auch seinen eigenen Körper zum Experiment herangezogen hatte, zu folgender Ansicht gekommen: „Man muß annehmen, daß die durch die Einverleibung eines säurefesten Mikroorganismus verursachte Reaktion die Bildung von Schutzstoffen anregt, welche nicht nur auf die Vertreter derselben Species, also nicht nur homolog, sondern auch auf die Vertreter der ganzen säurefesten Gruppe spezifisch wirken, also auch heterolog; und daß allen säurefesten Bakterien mehr oder weniger hohe immunisierende Eigenschaften auch gegenüber den anderen Vertretern dieser Gruppe zukommen." Gegen seinen Versuch werden jedoch auch von anderer Seite Einwände erhoben. Weber und Titze gelang es, mit Kaltblütertuberkelbacillen und säurefesten Grasbacillen die Widerstandsfähigkeit von Rindern gegen künstliche Infektion mit Perlsuchtbacillen, wenn auch nur in geringem Grade, zu erhöhen. Fritsche beobachtete die verlängerte Lebensdauer bei den Meerschweinchen, die mit Blindschleichentuberkelbacillen vorbehandelt waren.

So hat das Studium in den Beziehungen zwischen den einzelnen Arten der Tuberkelbacillengruppe deshalb lebhaftes Interesse erweckt, weil es sich nicht nur auf die Biologie beschränkt, sondern auch Schritt für Schritt das praktisch wichtige Immunitätsproblem der Tuberkulose löst.

Seit ich im Jahre 1907 mitteilte, daß die menschlichen Tuberkelbacillen durch Passagekulturen im Schildkröten- und Bufokörper sich nicht in Kaltblütertuberkelbacillen umwandelten, wie es Bataillon, Dubard, Terre, Lubarsch, Dieudonné, Herzog, Sorgo und Suess u. a. bei Fröschen, Schlangen, Blindschleichen etc. gelungen ist, wurde das Experiment weiter fortgesetzt. Die Resultate davon werden nun im folgenden beschrieben:

Die in meinem früheren Bericht erwähnte Passagekultur menschlicher Tuberkelbacillen, die im Laufe zweier Jahre 3 Schildkröten durchgemacht hat und im ganzen 19 Monate lang im betreffenden Kaltblüterkörper verweilte, d. h. aus der Schildkröte No. 40 herausgezüchtet ist, wurde am 29. März 1907 in 0,8-proz. Kochsalzlösung suspensiert und von neuem an 8 Schildkröten intraperitoneal geimpft. Diese Schildkröten wurden sämtlich während der Versuchszeit im Zimmer gehalten. Die Resultate davon sind tabellarisch gezeichnet, wie folgt:

Nummer der Schildkröte	Datum der Verimpfung	Datum des Absterbens resp. der Abtötung	Sektionsbefund	Resultate der Reinzüchtung
56	29. 3.	10. 5. verendet	Atrophie der Eingeweide. An der Oberfläche der Leber multiple, graue, kalkartig harte Bröckchen. Kein Tuberkelbacillus	nicht gezüchtet
57	29. 3.	21. 5. getötet	Ausgedehnter grauer Ueberzug und einige kleine Tuberkel an Leber. Zahlreiche dicke, kurze Tuberkelbacillen	+
58	29. 3.	14. 6. verendet	Verfault. An der unteren Fläche der Leber Ueberzug und Tuberkel. Tuberkelbacillen vorhanden	nicht gezüchtet
59	29. 3.	6. 7. verendet	Verfault. Am Peritoneum in der Umgebung der Impfstelle einige feine Tuberkel. Leber intakt	dgl.
60	29. 3.	24. 9. getötet	Ganz feine Tuberkel an Leber und Peritoneum. Ueberzug an einem kleinen Teil der Leberfläche	dgl.
61	29. 3.	8. 10. getötet	Mehrere Tuberkel an Leber, einige am Peritoneum und der Lunge	+
62	29. 3.	15. 10. verendet	Einige feine Tuberkel an der Leber	nicht gezüchtet
63	29. 3.	18. 1. getötet	Einige feine Tuberkel an der Leber	dgl.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, wurden die Schildkröten No. 57 am 53. Tage und No. 61 am 193. Tage nach der Verimpfung getötet. Die Reinzüchtung der Tuberkelbacillen aus den Lebertuberkeln dieser beiden Schildkröten gelang bei Bluttemperatur auf schräg erstarrtem Pferdeserum. Diese Kultur wächst nicht bei niedrigeren Temperaturen und stimmt kulturell und tierexperimentell mit den vorher geimpften menschlichen Tuberkelbacillen überein. Es ist sonst kein säurefester Bacillus im bei 26° und im Zimmer gehaltenen, mit dem Lebertuberkel beschickten Röhrchen aufgewachsen. Unter den übrigen 6 Schildkröten gingen 5 in 42—200 Tagen zugrunde; die eine (No. 63) zeigte sich nach etwa 9 Monaten abgemagert, bei der Sektion fand man ganz feine Tuberkel an der Leber; die Reinzüchtung davon wurde nicht versucht, weil es voraussichtlich keinen Zweck gehabt hätte.

Die tuberkulösen Prozesse bei den Schildkröten dieser Versuchsreihe sind im allgemeinen geringfügiger wie bei den früheren Versuchen. Auch die eben erwähnten, von selbst eingegangenen 5 Schildkröten boten keine besonders hochgradige Tuberkulose dar; ihre wesentliche Todesursache ist also eher in widernatürlicher Lebensweise im Laboratorium zu suchen. Die menschlichen Tuberkelbacillen wandeln sich danach nicht nur nicht in Kaltblütertuberkelbacillen um, sondern ihre Virulenz nimmt für Schildkröten auch nicht zu.

Daß eine Umwandlung der Warmblütertuberkelbacillen gar nicht leicht gelingt, ist aus der in meinem früheren Bericht erwähnten ausführlichen Arbeit von Weber und Taute zu ersehen; Weber hat weiter im Jahre 1907 berichtet, daß verschiedene Kulturen menschlicher Tuberkelbacillen, nachdem sie 5-fache und 8-fache Passage durch Ziegen, 4-fache durch Rinder gemacht und 300 Tage lang im Schweinekörper verweilt hatten, gar nicht von dem Typus einer humanen Kultur abwichen.

Die Anhänger der Umwandlungshypothese behaupten, die Umwandlung gelinge nicht in allen Fällen. Es ist aber zu berücksichtigen, daß die Umwandlung bisher nur in vereinzelten Fällen geglückt ist, ohne daß man die dafür in Betracht kommenden Bedingungen anzugeben vermag. Außerdem sind spontane Tuberkulose und säurefeste Saprophyten im Kaltblüterkörper durch Rupprecht, Bataillon, Dubard, Terre, Friedmann, Moeller, Küster, Weber und Taute, Sorgo und Suess u. a. einwandsfrei nachgewiesen. Man darf also nicht gleich auf eine Umwandlung schließen, falls eine Reinzüchtung der Kaltblütertuberkelbacillen aus dem Körper der vorher mit menschlichen Tuberkelbacillen geimpften Tiere gelingt. Wohl hat Moeller aus der Milz einer vor einem Jahre mit tuberkulösem Sputum geimpften Blindschleiche eine Art säurefesten Tuberkelbacillus, der mit dem Karpfentuberkelbacillus von Bataillon, Dubard und Terre identisch ist, isoliert; die Forscher nahmen diese Art als die dritte Varietät des Kochschen Bacillus an. Auf dem 14. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie hat aber Moeller selbst dagegen erklärt, sein Blindschleichentuberkelbacillus solle nicht der umgewandelte humane Tuberkelbacillus sein, sondern schon vorher sich im Körper der Blindschleiche als sogenannter Kaltblütertuberkelbacillus aufgehalten haben.

Bei einem Umwandlungsversuche mit den Kaltblütern, in deren Organen normalerweise säurefeste Stäbchen vorkommen, muß man äußerst vorsichtig sein. Die Warmblütertuberkulose wird bei den lebenden Tieren bekanntlich durch Tuberkulinprobe erkannt; es fehlt aber ein solches Mittel bei der Kaltblütertuberkulose. Die letztere kann man nur nach erfolgter Sektion herausfinden. Bei solchem Versuche muß man wenigstens nicht geimpfte Tiere zur Kontrolle heranziehen. Die Anhänger der Umwandlungshypothese haben aber diesen Kontrollversuch vernachlässigt. Es ist schwer zu verstehen, warum Sorgo und Suess, die Mutationstheoretiker, keinen Wert darauf gelegt haben, trotzdem sie selber den Kaltblütertuberkelbacillus aus der spontanen Tuberkulose der Leber einer nicht vorher geimpften Schlange isolieren konnten.

Leo Cohn sah bei 12 Fröschen, die mit menschlichen Tuberkelbacillen geimpft waren, in der Zeit von 84 Tagen keine Umwandlung. Seiner Ansicht nach ist es jedoch nicht ausgeschlossen, daß bei längerem Verweilen menschlicher Tuberkelbacillen im Kaltblüter doch noch eine Umwandlung in Kaltblütertuberkelbacillen zustande kommt. Den Forschern der Umwandlungshypothese soll aber in ziemlich kurzer Zeitdauer eine Umwandlung gelungen sein. So sollen nach **Bataillon**, **Dubard** und **Terre** die an Frösche geimpften menschlichen Tuberkelbacillen schon nach 3 resp. 12 Tagen, die Hühnertuberkelbacillen nach 14 Tagen sich in Kaltblütertuberkelbacillen umgewandelt haben. Ebenso haben **Lubarsch** nach $2^1/_4$ Monaten, **Dubard** bei Karpfen, Fröschen und Blindschleichen nach 12 resp. 28 Tagen, **Sorgo** und **Suess** bei Schlangen und Blindschleichen nach 57 resp. 59 Tagen eine Umwandlung menschlicher Tuberkelbacillen in Kaltblütertuberkelbacillen beobachtet. Dagegen haben die Gegner der Umwandlungshypothese nach viel längerer Zeitdauer die geimpften Warmblütertuberkelbacillen im Kaltblüterkörper unverändert gefunden. **Auche** und **Hobbs** haben menschliche Tuberkelbacillen nach 158-tägigem Aufenthalt im Froschkörper virulent nachgewiesen. **Sion** fand bei Fröschen nach 6 Monaten und bei Schildkröten nach $9^1/_2$ Monaten, **Herr** bei Blindschleichen nach $3^1/_2$ Monaten, **Weber** und **Taute** bei Fröschen nach 9 Monaten die geimpften menschlichen Tuberkelbacillen virulent erhalten. Die Hühnertuberkelbacillen blieben nach **Weber** und **Taute** $9^1/_4$ Monate lang im Froschkörper unverändert. Nach meinem eigenen Versuche änderten die menschlichen Tuberkelbacillen in einem Schildkrötenkörper (No. 40) 12 Monate lang ihren Typus nicht.

Nach den Anhängern der Umwandlungshypothese gelingt die Umwandlung nicht in allen Fällen. Es sollen einzelne Stämme der Tuberkelbacillen sein, die für besonders umwandlungsfähig gelten, und es soll einen Zeitabschnitt geben, nach welchem ein Stamm seinen Typus ändert.

Die von mir angewandten 2 Stämme menschlicher Tuberkelbacillen, A und B, sind schon mehrere Jahre auf Nährboden fortgezüchtet. In der letzten Zeit pflegen sie auch auf gewöhnlichem Agar, Traubenzuckeragar, gewöhnlicher Bouillon und Rindfleischdekokt (500,0 Rindfleisch, 1000,0 Wasser, neutralisiert mit Natrium bicarbonic.) zu wachsen. Vor kurzem bildeten sie noch weitere Abnormitäten. Als ich nämlich die 2 Röhrchen Pferdeserumkultur von Stamm A, welche 50 Tage lang im Brutschrank aufbewahrt waren, auf je 3 Glyzerinagar überimpfte, begann sie in allen Röhrchen schon in einigen Tagen als grauer ausgedehnter Ueberzug sich zu vermehren; am 5. Tage bildete sie einen ansehnlich dicken, fein gefalteten Belag. Auf anderen Nährböden wächst sie ebenfalls sehr rasch. Mikroskopisch sieht man ganz kurze, dicke, manchmal gebogene, vibrionenartige, säurefeste Stäbchen. Außerdem fand ich bei 4 Röhrchen Serumkultur von Stamm B, die an verschiedenen Tagen geimpft und etwa 4 Monate lang im Brutschrank aufbewahrt war, durch Ueberimpfung dasselbe atypische Wachstum. Ueber diese Abnormität werde ich später ausführlicher berichten. Hier möchte ich nur bemerken, daß selbst bei den von mir angewandten Tuberkelbacillenstämmen eines labilen Charakters doch eine Umwandlung in Kaltblütertuberkelbacillen nicht gelang. Meines Erachtens ist die Differenz zwischen den Warm- und Kaltblütertuberkelbacillen größer als die zwischen den Menschen- und Rindertuberkelbacillen; daß solch eine große Umwandlung wirklich in so kurzer Zeit stattfinden kann, wie die Forscher bisher annahmen, ist noch nicht sicher nachgewiesen. Gäbe es einen umwandlungsfähigen Bacillenstamm, so müßte man bei diesem durch dieselbe Behandlung regelmäßig oder wenigstens in den meisten Fällen eine Umwandlung wahrnehmen; in der Tat ist es aber nur in unbestimmten Fällen zufällig gelungen.

Ohne Zweifel ist die Varietätenbildung eines Bacillenstammes durch Tierkörper von der Species der Tiere abhängig. So hat Klimmer bei seinem Versuche unter den Fischen, Fröschen, Schlangen, Salamandern und Molchen die letzteren als am besten geeignet gefunden, um menschliche Tuberkelbacillen avirulent zu machen. Die von mir angewandten Schildkröten und Bufo könnten also zu diesem Zwecke ungeeignet sein; andere Forscher, die Gegner der Umwandlungshypothese sind, haben aber dieselben Tiersorten zugezogen wie Anhänger dieser Theorie.

Um die Umwandlungsfähigkeit der Rindertuberkelbacillen zu prüfen, wurden im Sommer 1907 5 Schildkröten damit intraperitoneal geimpft. Die Resultate sind in der folgenden Tabelle aufgezeichnet:

Nummer der Schildkröte	Datum der Verimpfung	Datum des Absterbens resp. der Abtötung	Sektionsbefund	Resultate der Reinzüchtung
64	31. 5.	9. 10. getötet	Mehrere Tuberkel an Leber und Peritoneum. Grauer Ueberzug an einem Teil der Leber	+
65	31. 5.	7. 1. verendet	Einige Tuberkel an der Leber	nicht gezüchtet
66	31. 5.	7. 1. verendet	Mehrere Tuberkel am Peritoneum in der Umgebung der Impfstelle und an der Leber	dgl.
67	31. 5.	15. 4. verendet	Einige Tuberkel subkutan an der Impfstelle	dgl.
68	31. 5.	21. 4. getötet	Mehrere Tuberkel an Leber, Peritoneum und Mesenterium	+

Die Schildkröten dieser Versuchsreihe wurden während des ganzen Winters im Gartengewässer gehalten. Die tot gefundenen Tiere wurden wegen Fäulnis nicht kulturell untersucht.

Aus den Tuberkeln der Schildkröte No. 64 und 68 bekam ich bei Bluttemperatur die Reinkultur der Rindertuberkelbacillen, bei niedrigeren Temperaturen aber nichts. Diese Kultur verhält sich kulturell und tierexperimentell identisch mit den vorher geimpften Bacillen; eine Umwandlung fand hierbei auch nicht statt.

Die mit Kulturmaterial aus den Tuberkeln der Schildkröte No. 68, die etwa 11 Monate nach der Impfung seziert wurde, beschickten 8 Serumröhrchen wurden in den Brutschrank gestellt; unter diesen ist nur in einem Röhrchen eine einzige Kolonie aufgewachsen. Diese Schildkröte war den ganzen Winter hindurch draußen gehalten worden. In meinem früheren Bericht habe ich erwähnt, daß die Schildkröte No. 40, welche im Zimmer gehalten wurde, 12 Monate nach Verimpfung noch reichlich vermehrungsfähige Tuberkelbacillen enthielt, entgegen den anderen, die den Winter über draußen zugebracht haben, welche keinen vermehrungsfähigen Tuberkelbacillus aufwiesen. Daraus geht hervor, daß die Tuberkelbacillen im Schildkrötenkörper bei Winterkälte früher zugrunde gehen als bei höheren Temperaturen. Die Intensität der tuberkulösen Prozesse der geimpften Schildkröte ist im wesentlichen abhängig von der Menge der geimpften Bacillen und von der Temperatur, in welcher die Versuchstiere gehalten werden. Im allgemeinen tritt die Affektion bei Blutwärme stärker auf, als bei den niedrigeren Temperaturen. Wie schwer der Warmblütertuberkelbacillus sich dem Kaltblüter anpaßt, ist auch daraus zu erkennen, daß die Virulenz der menschlichen Tuberkelbacillen für die Schildkröte durch die wiederholte Passage im Schildkrötenkörper gar nicht erhöht wird.

Sorgo und Suess ist eine Mutation menschlicher Tuberkelbacillen dadurch gelungen, daß sie mit den Kulturen menschlicher Tuberkelbacillen, die 15 bezw. 25 Monate lang bei Blut- und Zimmertemperatur aufbewahrt waren, Ringelnattern und Blindschleichen geimpft haben. Die beiden Forscher haben aber versäumt, nachzuweisen, daß diese veralteten Kulturen bei der Verimpfung lebensfähig waren, wie ich es schon in meinem früheren Bericht betonte. Es unterliegt keinem Zweifel, daß das Erhaltensein der Lebensfähigkeit der so lange aufbewahrten Kulturen nicht ohne weiteres angenommen werden darf. Ueber Lebensdauer der Tuberkelbacillen schreibt Cornet: „Serumkulturen halten sich etwa 6 Monate, Glyzerinagarkulturen sind schon nach 6—8 Wochen gänzlich oder größtenteils abgestorben, doch unterliegt dies manchen Schwankungen. . . . . Durchschnittlich darf man also annehmen, daß nach ca. 3 Monaten getrocknetes Sputum seine Virulenz einbüßt, unter besonderen Umständen aber nach 6—8 Monaten.“ Tsukiyama schreibt: „Bei meinen Versuchen waren sämtliche Kulturen im Alter von 12 bis 16 Monaten abgestorben, und nur 3 Kulturen, die 4—6½ Monate alt waren, enthielten vermehrungsfähige Keime. Vereinzelte lebende Keime scheinen auch in einer 11 Monate alten Kultur noch vorhanden gewesen zu sein.“ A. S. und F. Griffith konnten mit ihrem Einährboden eine 579 Tage alte Kultur der Rindertuberkelbacillen weiterzüchten. Nach Hammerschlag ist die Glyzerinbouillonkultur nach 8 Monaten bei erhaltener Vermehrungsfähigkeit avirulent geworden. Musehold versetzte tuberkelbacillenhaltiges Sputum mit Wasser; die Tuberkelbacillen sind dabei nach 4 Monaten abgeschwächt und nach 7 Monaten vollständig avirulent geworden. Strauss und Dubarry fanden die Tuberkelbacillen in sterilem Wasser bis zu 115 bezw. 95 Tagen lebensfähig. Chantemesse und Vidal haben die Tuberkelbacillen in Wasser nach 15 bezw. 62 Tagen durch Kultur lebensfähig gefunden, doch ging die Virulenz dieser Tuberkelbacillen in 15 Tagen verloren. Bartel und Neumann haben das Verhalten der Tuberkelbacillen in indifferenten Flüssigkeiten bei 37° untersucht und fanden die Tuberkelbacillen in Bouillon nach 2 Monaten, in 0,9-proz. Kochsalzlösung mit 3-proz. Glyzerinzusatz nach 33 Tagen, in 3-proz. Glyzerinwasser nach 2 Tagen und in Ringer-Loebscher Flüssigkeit nach 33 Tagen völlig avirulent. Außerdem fanden sie die Tuberkelbacillen in destilliertem Wasser und 0,9-proz. Kochsalzlösung nach 2 Monaten abgeschwächt; die Erkrankung der damit geimpften Meerschweinchen verlief langsamer. Nach den Versuchen von Bartel und Barrach sind die Tuberkelbacillen in destilliertem Wasser bei 37° nach 5 Tagen so weit abgeschwächt, daß das damit geimpfte Meerschweinchen ohne tuberkulösen Prozeß einfach durch Abmagerung und Atrophie der Organe verendete; nach 14 Tagen erwiesen sich diese Tuberkelbacillen völlig avirulent. Nach Levy und Blumenthal tötet die wässerige Lösung von Galaktose, Traubenzucker, Glyzerin und Harnstoff die darin aufgeschwemmten Tuberkelbacillen in einigen Tagen.

Tabelle I.
Lebensdauer der Tuberkelbacillenkulturen bei Blut- und Zimmertemperatur.

Art der T.B.	Datum der Züchtung	Nährboden	Wann ins Zimmer gestellt	Datum der Ueberimpfung auf Serumnährboden	Resultat der Ueberimpfung	Datum der Meerschweinchenverimpfung	Resultat der Meerschweinchenverimpfung
Stamm S No. 40	6. 2. 07	Serum		1. 8. 07	+		
dgl.	6. 2. 07	dgl.	5. 8. 07	5. 5. 08	—	5. 5. 08	—
„	6. 2. 07	„	13. 5. 08	13. 5. 08	+		
„	6. 2. 07	„	13. 5. 08	11. 7. 08	—	11. 7. 08	nicht entschieden
„	1. 8. 07	Glyzerinagar		5. 11. 08	+		
„	1. 8. 07	dgl.		27. 2. 09	+	6. 3. 09	+
„	13. 5. 08	Serum	20. 7. 08	3. 8. 08	—		
„	15. 5. 08	dgl.	2. 6. 08	16. 8. 08	—		
Stamm A	31. 1. 07	„	14. 9. 07	29. 11. 07	+		
dgl.	31. 1. 07	„	14. 9. 07	16. 9. 08	—	12. 10. 08	—
„	23. 1. 07	Glyzerinagar		6. 6. 08	+		
„	23. 1. 07	dgl.		21. 1. 09	+	21. 1. 09	+
„	17. 4. 07	„		18. 8. 08	—	16. 9. 08	+
„	17. 4. 07	„		20. 2. 09	—	20. 2. 09	+
„	7. 6. 07	„	5. 3. 08	5. 5. 08	+	5. 5. 08	+
„	9. 10. 08	„	15. 11. 08			13. 1. 09	—
Stamm C	29. 12. 06	„		7. 10. 07	+		
dgl.	4. 3. 07	„		7. 10. 07	+		
„	4. 3. 07	„	7. 10. 08	13. 5. 08	—		
„	17. 4. 07	„		6. 6. 08	—		
„	7. 6. 07	„	11. 9. 07	29. 11. 07	+		
„	7. 6. 07	„	11. 9. 07	6. 6. 08	—		
Stamm S No. 61	8. 10. 07	Serum		14. 6. 08	—		
Stamm S No. 33	3. 7. 07	dgl.		17. 2. 09	—	19. 2. 09	—
R.T.B.	17. 6. 07	Glyzerinagar		6. 6. 08	—		
dgl.	17. 8. 08	Serum		19. 2. 09	+		
R.T.B. S No. 64	9. 10. 07	dgl.		7. 7. 08	—		
H.T.B.	5. 3. 07	Glyzerinagar		18. 8. 08	+		
dgl.	5. 3. 07	dgl.		17. 2. 09	+		
„	20. 4. 07	„		18. 8. 08	—		
Stamm B	31. 1. 07	Serum	14. 9. 07	29. 11. 07	+		
dgl.	31. 1. 07	dgl.	14. 9. 07	25. 4. 08	—	16. 4. 08	—
„	26. 6. 07	„	31. 7. 07	17. 8. 07	+		
„	26. 6. 07	„	31. 7. 07	18. 9. 07	+		
„	26. 6. 07	„	31. 7. 07	5. 11. 07	+		
„	26. 6. 07	„	31. 7. 07	9. 12. 07	+		
„	26. 6. 07	„	31. 7. 07	16. 1. 08	+		
„	26. 6. 07	„	31. 7. 07	19. 2. 08	—	20. 3. 08	+
„	26. 6. 07	„	31. 7. 07	20. 3. 08	—	13. 5. 08	—
„	2. 7. 07	„	31. 7. 07	5. 11. 07	+		
„	2. 7. 07	„	31. 7. 07	9. 12. 07	+		
„	2. 7. 07	„	31. 7. 07	26. 2. 08	—		

Tabelle II.
Lebensdauer der Tuberkelbacillenkulturen im Eisschrank.

Art der T.B.	Datum der Züchtung	Nährboden	Wann in den Eisschrank gestellt	Datum der Ueberimpfung auf Serumnährboden	Resultat der Ueberimpfung	Datum der Meerschweinchenverimpfung	Resultat der Meerschweinchenverimpfung
Stamm C	29. 12. 06	Glyzerinagar	7. 10. 07	13. 5. 08	—	14. 6. 08	—
Stamm D	17. 6. 07	dgl.	2. 6. 08	4. 8. 08	—		
Stamm S No. 40	13. 5. 08	Serum	20. 7. 08	17. 7. 08	—		
Stamm B	11. 7. 07	dgl.	31. 7. 07	30. 9. 07	+		
dgl.	11. 7. 07	„	31. 7. 07	5. 11. 07	+		
„	11. 7. 07	„	31. 7. 07	9. 12. 07	+		
„	11. 7. 07	„	31. 7. 07	15. 1. 08	—	20. 2. 08	+
„	11. 7. 07	„	31. 7. 07			20. 3. 08	—

Erklärung der Bezeichnungen der Tuberkelbacillenstämme: Stamm A, B, C und D = die menschlichen Tuberkelbacillen; Stamm S No. 33, 40 und 61 = menschliche Tuberkelbacillen, die den Schildkrötenkörper passiert haben; R.T.B. = die Rindertuberkelbacillen; R.T.B.S. = die durch die Schildkröte passierten Rindertuberkelbacillen; H.T.B. = die Hühnertuberkelbacillen.

Als ich das Verhalten der veralteten Tuberkelbacillenkulturen im Schildkrötenkörper untersuchte, hatte ich daneben die Lebensdauer der Tuberkelbacillen in Kulturen und Flüssigkeiten geprüft. Zu diesem ersteren Zwecke wurden Glyzerinagar- und Pferdeserumkulturen der Menschen- und Rindertuberkelbacillen mit Paraffin luftdicht verschlossen, bei 37° aufbewahrt und zum Teil nachher in niedrigere Temperaturen gestellt; in verschiedenen Zeitabständen wurde davon auf Serumnährböden übergeimpft, zum Teil auch an Meerschweinchen verimpft. Die Resultate sind in den vorstehenden Tabellen aufgezeichnet.

Aus den Tabellen ist ersichtlich, daß die Lebensdauer der Tuberkelbacillen wesentlich von der Temperatur abhängig ist. Bei 37° blieb der Stamm A in einem Falle nach 2 Jahren noch lebens- und infektionsfähig erhalten; im Zimmer und Eisschrank dagegen erwies sich der Stamm B höchstens 9 bezw. 6 Monate lang virulent. Glyzerinagarkultur bewahrt ihr Leben im allgemeinen länger als Serumkultur. Manchmal gehen die Kulturen selbst bei 37° in einigen Monaten zugrunde; in einem Falle war die Glyzerinagarkultur von Stamm A, nachdem sie 1 Monat bei 37° und 2 Monate im Zimmer zugebracht hatte, nicht mehr infektionsfähig geworden. Die Rindertuberkelbacillen waren bei 37° nach 6 Monaten noch vermehrungsfähig, nach 9 Monaten nicht mehr. Die Hühnertuberkelbacillen waren nach 2 Jahren noch wachstumsfähig. Bei meinem Versuche kamen Fälle vor, wo die Virulenz der Tuberkelbacillen im Zimmer 1 bezw. 3 Monate und bei 37° sogar 6 Monate länger als die Wachstumsfähigkeit sich erhielt; dagegen habe ich niemals das umgekehrte Verhältnis gesehen, wie Hammerschlag bei Bouillonkulturen angibt, es konstatiert zu haben. Nach Sternberg können die toten Tuberkelbacillen durch Verimpfung an Kaninchen und Meerschweinchen an verschiedenen Organen in Verkäsung begriffene Veränderungen erzeugen und die Tiere töten. Man darf also nicht gleich die Tuberkelbacillen als lebensfähig bezeichnen, wenn sie auch die Versuchstiere durch Tuberkulose töten. Ich habe in der Regel die Tuberkelbacillen in der Menge von $^1/_{100}$—$^1/_{10}$ mg an Meerschweinchen subkutan verimpft. Die toten Tuberkelbacillen rufen in dieser Menge nie eine Tuberkulose selbst der Impfstelle und regionären Drüsen hervor; die lebenden Tuberkelbacillen dagegen erzeugen selbst mit $^1/_{1000000}$ mg ohne Ausnahme die allgemeine Tuberkulose. Aus diesem Grunde bin ich sicher, daß bei meiner Versuchsweise die Beziehung zwischen der Erhaltung der Virulenz und der der Wachstumsfähigkeit festgestellt worden ist.

Die oben angeführten Versuchsresultate beweisen, daß die Tuberkelbacillenkulturen nicht immer so lange lebensfähig sind, wie es Sorgo und Suess annahmen.

Die Resultate der mit den lange Zeit aufbewahrten Tuberkelbacillenkulturen an Schildkröten angestellten Versuche werden weiter unten ausgeführt.

I. Die am 31. Jan. 1907 gezüchtete, bei 37° aufbewahrte Serumkultur vom Stamm B wurde am 14. Sept. ins Zimmer gestellt und am 25. April 1908 an 3 Schildkröten intraperitoneal injiziert. Die Schildkröten wurden während der Versuchszeit im Zimmer gehalten.

No. der Schildkröte	Datum der Verimpfung	Datum des Absterbens resp. Abtötung	Sektionsbefund	Resultate der Reinzüchtung
69	25. 4.	30. 4. verendet	Geringe Menge Exsudat in der Bauchhöhle	nicht gezüchtet
70	25. 4.	14. 5. abgetötet	Durchscheinender, gallertartiger Ueberzug an der Leber	dgl.
71	25. 4.	20. 6. abgetötet	Mehrere feine Tuberkel an der Leber	dgl.

Am Tage der Verimpfung an Schildkröten wurde die Kultur auf 2 Röhrchen Serumnährboden übergeimpft; sie blieben steril. Ein subkutan geimpftes Meerschweinchen zeigte bei der Sektion nach 5 Wochen keine Tuberkulose. Die geimpfte Kultur enthielt also nur tote Tuberkelbacillen.

II. Die am 7. Juni 1907 geimpfte, bei 37° aufbewahrte Glyzerinagarkultur von Stamm A wurde am 5. März 1908 ins Zimmer gestellt und am 5. Mai an 3 Schildkröten intraperitoneal injiziert. Die Schildkröten blieben im Zimmer.

No. der Schildkröte	Datum der Verimpfung	Datum des Absterbens resp. Abtötung	Sektionsbefund	Resultate der Reinzüchtung
72	5. 5.	9. 5. verendet	Nicht seziert	nicht gezüchtet
73	5. 5.	9. 5. verendet	Nicht seziert	dgl.
74	5. 5.	20. 6. abgetötet	Einige Tuberkel an der Leber u. Mesenterium	+

Die geimpfte Kultur erwies sich kulturell und tierexperimentell lebensfähig und virulent.

Aus den Lebertuberkeln der Schildkröte No. 74 bekam ich bei 37° die Reinkultur der Tuberkelbacillen, sie verhalten sich identisch mit der geimpften Kultur.

III. Die am 6. Febr. 1907 geimpfte, bei 37° aufbewahrte Serumkultur von Stamm S No. 40 wurde am 13. Mai 1908 ins Zimmer gestellt und am 11. Juli an 3 Schildkröten intraperitoneal injiziert. Die Schildkröten blieben im Zimmer.

No. der Schildkröte	Datum der Verimpfung	Datum des Absterbens resp. Abtötung	Sektionsbefund	Resultate der Reinzüchtung
75	11. 7.	20. 8. abgetötet	Einige Tuberkel an der Leber	—
76	11. 7.	22. 8. abgetötet	Keine Tuberkel	nicht gezüchtet
77	11. 7.	22. 8. abgetötet	Ganz feine Tuberkel an der Leber und Mesenterium	—

Am Tage der Verimpfung an Schildkröten wurden die Tuberkelbacillen auf 2 Röhrchen Serumnährboden übergeimpft; sie blieben steril. Ein subkutan geimpftes Meerschweinchen ging nach 10 Tagen an Diarrhöe zugrunde ohne Tuberkulose. Die Lebensfähigkeit der angewandten Kultur ist hierbei nicht entschieden.

In den oben angeführten Versuchen ist mir eine Mutation der veralteten Tuberkelbacillenkulturen nicht gelungen. Meine Versuche sind nicht zahlreich genug; jedenfalls kann man aber daraus schließen, daß die Sorgo-Suesssche Versuchsanordnung Einwände zuläßt und ihre Mutationstheorie der Tuberkelbacillen keine feste Basis hat. Daß ich entgegen der Sorgo-Suessschen Angabe statt Ringelnattern und Blindschleichen Schildkröten angewandt habe, kann möglicherweise zu meinem negativen Resultate beigetragen haben. K. Tsukiyama hat aber im Kosselschen Laboratorium mit Blindschleichen und Ringelnattern gearbeitet; durch seine Versuche sind die von Sorgo und Suess aufgestellten Behauptungen ebenfalls widerlegt.

Im Anschluß an die oben angeführten Untersuchungen habe ich auch die Lebensdauer der in indifferenten Flüssigkeiten aufgeschwemmten Tuberkelbacillen geprüft. Als indifferente Flüssigkeit nahm ich destilliertes Wasser, 0,8-proz. Kochsalzlösung, Rindfleischdekokt und Glyzerinbouillon. Die angewandten Stämme der menschlichen Tuberkelbacillen sind A, B und E. A und B sind, wie vorher erwähnt, seit mehreren Jahren auf Nährboden fortgezüchtet; dagegen ist E vor kurzem aus Sputum durch Meerschweinchen isoliert. Die 4- bis 6-wöchentliche Glyzerinagar- oder Serumkultur dieser Stämme wird in einer Reibschale zerrieben unter allmählichem Zusatz von der vorher genannten Flüssigkeit im Verhältnis 0,01 g : 50,0 ccm. Nach etwa 30 Minuten wird die überstehende trübe Aufschwemmung in Eprouvetten verteilt, durch Parafin verschlossen und in den Brutofen oder Eisschrank gestellt. In verschiedenen Zeitabständen wird davon auf Serumnährboden übergeimpft oder an Meerschweinchen in der Menge von 0,3 ccm subkutan geimpft. Die folgenden Tabellen der Kulturversuche zeigen die maximale Zeitdauer der erhaltenen Wachstumsfähigkeit bei den wiederholten Untersuchungen; es kamen also auch Fälle vor, wo die Aufschwemmungen noch in kürzerer Zeitdauer ihre Vermehrungsfähigkeit verloren, als in den Tabellen angegeben ist.

I. Kulturversuch der bei 37° aufbewahrten Aufschwemmungen von Stamm B.

	Sofort	1 Tag	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	7 Tag.	14 Tag.	21 Tag.	60 Tag.	150 Tag.	9 Mon.
Destilliertes Wasser	+	+	—	—	—	—	—				
0,8-proz. Kochsalzlösung	+	+	+	—	—	—	—				
Rindfleischdekokt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Glyzerinbouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—

Der Stamm B verlor in Wasser und Kochsalzlösung in wenigen Tagen die Wachstumsfähigkeit, dagegen wuchs der Bacillus in Rindfleischdekokt und Glyzerinbouillon an der Oberfläche der Flüssigkeit auf und zeigte sich nach 5 Monaten noch vermehrungsfähig und virulent, bei der Untersuchung nach 9 Monaten war er bei erhaltener Virulenz vermehrungsunfähig geworden. Daß der Stamm B auf Rindfleischdekokt wächst, ist auf seinen variierten Charakter zurückzuführen, denn der Stamm A und E, in Rindfleischdekokt aufgeschwemmt, erwies sich in einer anderen Versuchsreihe nach 40 Tagen als völlig abgestorben, ohne an der Oberfläche zu wachsen.

II. Kulturversuch der in den Eisschrank gestellten Aufschwemmungen von Stamm B.

	Sofort	1 Tag	2 Tag.	3 Tag.	4 Tag.	5 Tag.	7 Tag.	9 Tag.	16 Tag.	21 Tag.	28 Tag.	60 Tag.
Destilliertes Wasser	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
0,8-proz. Kochsalzlösung	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
Glyzerinbouillon	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
Rindfleischdekokt	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—

Im Eisschrank bewahrt der Stamm B in Wasser und Kochsalzlösung seine Wachstumsfähigkeit länger als bei 37°; umgekehrt verhält es sich in Rindfleischdekokt und Glyzerinbouillon.

Sowohl im Eisschrank als auch bei 37° halten sich die Tuberkelbacillen in Kochsalzlösung länger vermehrungsfähig als im Wasser.

III. Kulturversuch der bei 37° aufbewahrten wässerigen Aufschwemmungen von Stamm A und E.

	Sofort	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage
Stamm A	+	—	—	—	—	—
Stamm E	+	—	—	—	—	—

IV. Kulturversuch der in den Eisschrank gestellten wässerigen Aufschwemmungen von Stamm A und E.

	Sofort	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage
Stamm A	+	+	+	+	—	—
Stamm E	+	+	+	—	—	—

Die beiden Stämme A und E bewahren im Eisschrank ihre Wachstumsfähigkeit ebenfalls länger als bei 37°, im ganzen aber ist dieselbe kürzer als bei Stamm B.

Resultate der Meerschweinchenverimpfung der Tuberkelbacillenaufschwemmungen:

I. Impfversuch der bei 37° in den Brutofen gestellten Aufschwemmungen des Stammes B.

	7 Tage	9 Tage	12 Tage	29 Tage	41 Tage	98 Tage
Destilliertes Wasser	+	—	—			
0,8-proz. Kochsalzlösung	+		+	+	+	+

II. Impfversuch der in den Eisschrank gestellten Aufschwemmungen des Stammes B.

	21 Tage	41 Tage	56 Tage	98 Tage	112 Tage	152 Tage	156 Tage
Destilliertes Wasser	+	+		+		—	
0,8-proz. Kochsalzlösung	+	+		+		+	
Rindfleischdekokt			+		+		+
Glyzerinbouillon			+		+		+

III. Impfversuch der wässerigen Aufschwemmungen des Stammes A.

	3 Tage	7 Tage	12 Tage	29 Tage	56 Tage	86 Tage	147 Tage
37°	+	—	—				
Eisschrank		+		+	+	+	—

Die mit den Aufschwemmungen — die 3 Tage bei 37° im Brutofen und 86 Tage im Eisschrank gehalten waren — geimpften Meerschweinchen wurden nach 3½ bezw. 2 Monaten getötet. Bei den beiden Tieren beschränkte sich der tuberkulöse Prozeß auf die Inokulationsstelle und regionären Lymphdrüsen; von Tuberkulose der Eingeweide war nichts zu konstatieren.

IV. Impfversuch der wässerigen Aufschwemmungen des Stammes E.

	17 Tage	25 Tage	52 Tage
37°	+	—	—
Eisschrank	+	+	+

Als das gesamte Ergebnis des Verhaltens der in den Flüssigkeiten aufgeschwemmten Tuberkelbacillen ergab sich, daß die Tuberkelbacillen im Wasser und bei 37° am raschesten zugrunde gingen; z. B. der Stamm A im Wasser ist bei 37° nach 7 Tagen völlig abgestorben; dagegen im Eisschrank zeigte er sich nach 86 Tagen noch schwach virulent. Die Lebensdauer der in den Flüssigkeiten suspendierten Tuberkelbacillen ist auch von der Verschiedenheit ihrer Abstammung abhängig. Bartel und Neumann haben darauf hingewiesen, daß die abschwächende oder abtötende Wirkung des Wassers auf Bakterien von der Zahl der aufgeschwemmten Bakterien, vom Alter der Kultur, von der Menge der mit den Bakterien aufgenommenen Nährbodensubstanz und von den aus den Glasröhrenwänden etc. ins Wasser übergegangenen Metallen beeinflußt wird. So ist es mir in einer Versuchsreihe vorgekommen, daß der im Wasser suspensierte Stamm B sich bei 37° nach 14 Tagen noch virulent und erst nach 21 Tagen avirulent zeigte; es soll hier irgendeine Verunreinigung des Wassers stattgefunden haben, wodurch die Lebensfähigkeit der Tuberkelbacillen ausnahmsweise lange erhalten wurde.

Sowohl in Flüssigkeiten als auch auf festen Nährböden hält sich die Virulenz der Tuberkelbacillen stets länger als die Wachstumsfähig-

keit, und niemals umgekehrt. Im Medium, wo die Tuberkelbacillen lange Zeit wachstumsfähig gefunden werden, geht ihre Virulenz auch langsam verloren. Durch das Ergebnis der Kulturversuche der in den Flüssigkeiten suspendierten und bei den verschiedenen Temperaturen gehaltenen Tuberkelbacillen ist also die Zeitdauer ihrer Virulenzerhaltung beinahe vorauszusehen. In meinem Versuche sind die Tuberkelbacillen im Wasser in der kürzesten Zeit wachstumsunfähig und avirulent geworden, in Kochsalzlösung dauerte es etwas länger und in Rindfleischdekokt und Glyzerinbouillon am längsten.

Während die Tuberkelbacillen in oder auf Nährböden bei 37° länger virulent bleiben als bei den niedrigeren Temperaturen, verhält es sich in Wasser und Kochsalzlösung gerade umgekehrt. Aehnliches haben Bartel und Neumann bei der Wirkung des Glyzerins gesehen; sie schreiben: „Glyzerinzusatz zeigt eine ganz eigentümliche Wirkung. Er erhöht die Schädlichkeit eines an sich schädlichen Mediums noch mehr. Bei wirklich indifferenten Aufschwemmungsflüssigkeiten dagegen erweist er sich von großem Wert für das Wachstum und die Virulenzerhaltung der Tuberkelbacillen.“ Ihrer Ansicht nach sollen durch Vermittelung des Glyzerins sowohl die Nährsubstanz als auch das schädliche Agens leichter in Bakterienkörper eindringen. Bei meinem Versuche wurden wahrscheinlich die günstigen wie auch die schädlichen Einflüsse durch die Blutwärme erhöht.

Welches ist nun der Prozeß für die schädliche Wirkung des Wassers auf Tuberkelbacillen? Levy und Blumenthal erklären die schädliche Wirksamkeit der Glyzerin-, Zucker- und Harnstofflösung dadurch, daß diese Lösungen infolge ihres hohen osmotischen Druckes den Bakterienkörpern Wasser entziehen und sie zum Schrumpfen und Eintrocknen bringen. Im Gegenteil dazu soll die schädliche Wirkung des Wassers außer dem Fehlen des Nährstoffes noch darin zu suchen sein, daß es den Bakterienleib durchtränkt und die löslichen Leibessubstanzen extrahiert. Nach der Ansicht von Levy und Blumenthal werden durch ihre Abtötungsmethode mit den indifferenten Flüssigkeiten die im Bakterienleibe enthaltenen, zur Immunisierung wichtigen Antigene nicht beeinträchtigt. Die beiden Forscher konnten Kaninchen durch Vorbehandlung mit den nach ihrer Methode abgetöteten Tuberkelbacillen vor der Infektion schützen; bei Meerschweinchen war das Resultat nicht so befriedigend. Bartel und Neumann versuchten die Immunisierung mit den Tuberkelbacillen, die mit Milz-, Lymphdrüsensubstanz oder deren Dekokt abgetötet waren; sie konnten Versuchstiere zum Teil mit Erfolg immunisieren. Meine Immunisierungsversuche mit den auf festen Nährböden, im Rindfleischdekokt und destillierten Wasser abgetöteten Tuberkelbacillen verliefen bisher erfolglos.

Zusammenfassung.

1) Die menschlichen Tuberkelbacillen wandeln sich durch Passage durch den Körper der Schildkröte nicht in Kaltblütertuberkelbacillen um. Bei einer Versuchsreihe hielten sich die Tuberkelbacillen in der ersten Schildkröte 3 Monate, in der zweiten 4 Monate, in der dritten 12 Monate und in der vierten über 6 Monate auf, ohne ihren Typus zu verändern.

2) Die 11 bezw. 18 Monate lang bei 37° und Zimmertemperatur

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

aufbewahrten Kulturen menschlicher Tuberkelbacillen änderten durch Schildkrötenpassage ihren Typus nicht.

3) Es kommt vor, daß Kulturen menschlicher Tuberkelbacillen bei 37° 24 Monate lang lebensfähig erhalten bleiben. Bei den niedrigeren Temperaturen gehen sie ohne Ausnahme in kürzerer als Jahresfrist zugrunde.

4) Die Rindertuberkelbacillen haben durch Schildkrötenpassage ihren Typus ebenfalls nicht geändert.

5) Ueber die Schädlichkeit der Flüssigkeiten ist folgendes hervorzuheben. Die im Wasser suspendierten und bei 37° gehaltenen Tuberkelbacillen gehen in der kürzesten Zeit zugrunde. Bei den niedrigeren Temperaturen und in den übrigen von mir untersuchten Flüssigkeiten leben sie viel längere Zeit.

6) Die Tuberkelbacillen in und auf Nährsubstanz erhalten ihr Leben bei 37° länger als bei den niedrigeren Temperaturen; umgekehrt verhält es sich bei Tuberkelbacillen im Wasser und in Kochsalzlösung.

7) Die Tuberkelbacillen auf Nährboden und in indifferenten Flüssigkeiten erhalten ihre Virulenz stets länger als ihre Wachstumsfähigkeit.

Zum Schluß sei es mir gestattet, Herrn Prof. Dr. S. **Kitasato** für seine freundliche Anleitung meinen ergebensten Dank zu sagen.

Literatur.

1) **Bartel** u. **Neumann**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 40. 1906. Heft 4.
2) — — Ebenda. Bd. 47. Heft 4 u. 5. 1908.
3) **Bartel** u. **Bachrach**, Festschrift 4. Intern. Tuberkulosekonferenz. 1907.
4) **Baumgarten**, Berl. klin. Wochenschr. 1907. Nr. 43.
5) **Cornet**, Die Tuberkulose. 1907.
6) **Dieudonné**, Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 17.
7) **Friedmann**, Dtsch. med. Wochenschr. 1903. Nr. 2.
8) — Ebenda. 1903. Nr. 50.
9) — Ebenda. 1904. Nr. 46.
10) — Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 4. 1903. Heft 5.
11) **Koch**, Dtsch. med. Wochenschr. 1901. Nr. 33 u. 48.
12) **Küster**, Münch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 2.
13) — Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 8. 1906. Heft 3 u. 4.
14) **Klimmer**, Ebenda. Bd. 12. 1908. Heft 5.
15) **Klemperer**, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 48. 1903. Heft 3 u. 4.
16) **Kirstein**, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 39. 1902. Heft 1.
17) **Libbertz** u. **Ruppel**, Dtsch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 4 u. 5.
18) **Levy** u. **Blumenthal**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 42. 1906. Heft 3.
19) — — Ebenda. Bd. 46. Heft 3 u. Bd. 47. 1908. Heft 3.
20) **Moeller**, Zeitschr. f. Tuberkul. Bd. 5. 1904. Heft 3.
21) **Moriya**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 45. 1907. Heft 4.
22) **Neufeld**, Dtsch. med. Wochenschr. 1903. Nr. 37.
23) **Orth** u. **Rabinowitsch**, Beiheft zu Virchows Archiv. Bd. 190. 1907.
24) **Sorgo** u. **Suess**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43. 1906. Heft 5 u. 6.
25) **Tsukiyama**, Inaug.-Diss. Gießen. 1908.
26) **Weber** u. **Taute**, Tuberkulose-Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. 1905. Heft 3.
27) **Weber** u. **Titze**, Ebenda. 1907. Heft 7.
28) **Weber**, Ebenda. 1907. Heft 6.

Nachdruck verboten.

Ueber einen neuen säure- und alkoholfesten Erdbacillus, nebst kurzen Bemerkungen über die zu seiner Isolierung angewandten Methode

(Antiforminmethode nach Uhlenhuth und Kersten).

Von Dr. med. **H. E. Kersten,**
Anstaltsarzt an der Brandenburger Landesirrenanstalt Eberswalde.

Infolge Verbesserung der Züchtungsmethoden ist es in den letzten Jahren gelungen, aus Moos, Gras, Schlamm, Erde etc. Bacillen zu isolieren, die, wie die Tuberkelbacillen, die Eigenschaft der Säure- und Alkoholfestigkeit zeigen. Daß es sich nicht um wirkliche, zufällig in das Material hineingelangte Tuberkelbacillen humanen oder bovinen Ursprunges handelte, sondern um unschädliche Saprophyten, bewies vor allem der Umstand, daß sie bei den Tierarten, welche für die echten Tuberkelbacillen empfänglich sind, das spezifische Krankheitsbild der Tuberkulose nicht zeigten.

Während meiner Tätigkeit im Kaiserlichen Gesundheitsamte stellte ich orientierende Versuche an, ob es möglich wäre, mittels der von Uhlenhuth und Kersten zur Züchtung von Tuberkelbacillen aus Sputum angegebenen Antiforminmethode auch aus der Erde säurefeste Saprophyten, die aller Voraussicht nach ja auch infolge ihrer Fettwachshülle der Einwirkung des Antiformins widerstehen mußten, zu isolieren[1]. Zu diesem Zwecke mischte ich, um mich über die Wirkung des Antiformins zu orientieren, Erde vom Hofe des Kaiserl. Gesundheitsamtes zu Groß-Lichterfelde mit Kulturmassen eines mir zur Verfügung stehenden Kaltblütertuberkelbacillenstammes durch nicht zu intensives Verreiben im Porzellanmörser und fügte eine 15-proz. Antiforminlösung hinzu, die ich 1 Stunde lang einwirken ließ. Die Mischung wurde dann zentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen, das Röhrchen mit steriler physiologischer Kochsalzlösung aufgefüllt, durchgeschüttelt und wieder zentrifugiert; das Centrifugat wurde auf erstarrtem Rinderserum mit und ohne Glyzerinzusatz und auf Glyzerinagar ausgestrichen. Um ein Austrocknen der Röhrchen, die bei Zimmertemperatur und bei Brutschranktemperaturen von 25°, 32° und 37° C gehalten wurden, zu vermeiden, wurden diese mit Paraffin verschlossen.

Außer den Kolonieen des mit der Erde vermischten Kaltblütertuberkulosestammes und einer Streptotricheenart erschienen nach 4 bis 6 Wochen auf einigen Glyzerinserumröhrchen mit Ausnahme derjenigen, die bei 37° C standen, bröckelige, runde, am Rande etwas gezackte, zitronengelbe Kolonieen von Stecknadelkopfgröße, die ziemlich rasch bis zu Linsengröße wuchsen. Die Untersuchung der gelben Kolonieen ergab, daß es sich um einen säurefesten Bacillus handelte, der bis jetzt noch nicht beschrieben ist. Aus diesem Grunde möchte ich eine kurze Beschreibung dieses Mikroorganismus geben.

---

[1] Die ausführliche Arbeit siehe Festschrift zu Ehren von Brieger, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie. 1909. Bd. 6. Heft 3. p. 759—776. In dieser Arbeit ist bereits über die von mir unternommenen Züchtungsversuche säurefester Saprophyten berichtet worden.

Mikroskopisches Aussehen: Schlanke, teilweise an einem Ende angeschwollene, ziemlich lange, oft etwas gekrümmte Stäbchen. Auch kürzere Formen wurden beobachtet. Ihr Aussehen erinnert sehr an Diphtheriebacillen. Verzweigungen sind vorhanden. Unbeweglich. Mit Methylenblau schlecht, nach Gram und nach Ziehl-Neelsen gut färbbar. Nach letzterer Methode hübsche Zebrafärbung. Die üblichen zur Entfärbung benutzten Säuren resp. der Alkohol entziehen dem mit Karbolfuchsin gefärbten Stäbchen den Farbstoff nicht.

Wachstum nach 2—6 Wochen auf allen Nährböden, am besten auf gewöhnlichem und Glyzerinrinderserum.

Temperaturoptimum zwischen 25 und 32° C.

Gelatineplatte: Natürliche Größe. Punktförmige, später rundliche, glänzende, gelbe Kolonieen. Bei 60-facher Vergrößerung: glatte Randpartieen, im Innern mehr oder weniger faltig. Wellig erhaben mit zahlreichen, in sich verzweigten, stark reflektierenden, weißen, gewundenen Streifen. Keine Verflüssigung der Gelatine. Sowohl auf- wie einliegende Kolonieen zeigen diese Merkmale.

Gelatinestrich: Anfangs schmutzig-weißer, fettglänzender, später gelbbrauner Belag.

Agar- und Glyzerinagarstrich: Nach 6 Tagen schmutzigweißer, körniger Belag, später mit linsengroßen, konzentrisch geschichteten, warzenartigen, gelbbraunen Erhebungen.

Serum und Glyzerinserum: Zitronengelber, gleichmäßiger, glänzender, saftiger Belag.

Bouillonkultur: Anfangs getrübt, später klar. Häutchenbildung ist nicht vorhanden. Bodensatz gelbgraurot.

Glyzerinkartoffelkultur: Dicke, faltige, körnige, schmutzigweiße Auflage, später knollig erhaben. Keine Farbstoffbildung.

Indol wird gebildet, allerdings nur wenig, dagegen ziemlich stark Schwefelwasserstoff.

Mäßige Gasbildung auf zuckerhaltigen Nährböden.

Meerschweinchen und Kaninchen, subkutan mit größeren Mengen Bouillonkultur infiziert, erkranken nicht. Teilweise hat sich an der Impfstelle ein lokaler Abszeß gebildet, der nach einigen Tagen von selbst aufbricht und selbst ausheilt.

Von den bis jetzt beschriebenen säurefesten Saprophyten ähnelt dieser Bacillus am meisten dem Mycobacterium lacticola α. planum Möller[1]), jedoch bestehen auch wesentliche Unterschiede zwischen beiden. So bildet der eben beschriebene Erdbacillus Gas aus zuckerhaltigen Nährböden, zeigt ein anderes Wachstum auf den einzelnen Nährböden und bildet vor allem auf Rinderserum und Glyzerinrinderserum vom Beginn des Wachstums an zitronengelben Farbstoff. Auf den übrigen Nährböden erfolgt diese Farbstoffbildung ebenfalls, allerdings erst einige Zeit nach begonnenem Wachstum.

Zum Schluß noch einige Bemerkungen über die zur Anwendung gelangte Methode.

Zur Züchtung von säurefesten Saprophyten aus Heu, Erde, Schlamm, Moos etc. war man früher hauptsächlich auf die Methoden von Spengler, Piatkowski und auf die von Weber und Taute angewiesen; besonders die letztere lieferte brauchbare Resultate. Spengler brachte in einer Petri-Schale, in der das zu untersuchende Material

---

[1]) Centralbl. f. Bakteriol. Abt. 1. Originale. Bd. 25. p. 369.

— er benutzte nur Sputum, während Weber und Taute mit dieser Methode auch bei der Züchtung säurefester Saprophyten Erfolge erzielten — ausgebreitet war, 3—5 Tropfen Formalin zur Verdunstung, ließ es einige Zeit, $^3/_4$—2 Stunden, einwirken und verarbeitete das Material dann, wenn nach seiner Annahme die Begleitbakterien abgetötet sein mußten, weiter. Piatkowski mischte eine kleine Menge des bacillenhaltigen Materials im sterilen Reagenzglase mit 10 ccm sterilen Wassers oder Bouillon, setzte 2—3 Tropfen Formalin hinzu, schüttelte gehörig durch und beimpfte nach einer halben Stunde Agar- oder Glyzerinagarröhrchen. Nach je einer Viertelstunde strich er dann noch mehrere Male das Material auf den Nährböden aus. Nach seiner Angabe erzielt man dann in einem oder mehreren Röhrchen die Reinkultur des betreffenden säurefesten Bacillus. Mit beiden Methoden hatten Weber und Taute in vielen Fällen keine befriedigenden Resultate, denn vielfach waren bereits nach wenigen Tagen die Kulturen von nicht säurefesten Keimen überwuchert. Deshalb setzten sie zu 2-proz. Glyzerinserum, analog dem Löfflerschen Malachitgrünagar, Malachitgrün Höchst No. 120 im Verhältnis 1:500 zu. Nach einer $^3/_4$—$1^1/_2$-stündigen Vorbehandlung der Objekte mit Formaldehyd nach Spengler oder nach Piatkowski wurden diese auf dem Malachitgrün-Glyzerinserum ausgestrichen. Ein mehr oder weniger großer Teil der Platten blieb rein, nach 14 Tagen bis 3 Wochen zeigte sich Wachstumsbeginn der Säurefesten. Diese wurden in ihrer Vitalität nicht geschädigt, während die übrigen Keime in hervorragender Weise durch das dem Nährboden zugefügte Malachitgrün zurückgehalten wurden.

Methode Spengler und Piatkowski versagen also in einer Anzahl von Fällen, während die Methode Weber-Taute zwar ganz gute Resultate gibt; sie ist jedoch dadurch kompliziert, daß nicht direkt auf Serum, Glyzerinserum, Agar etc. gezüchtet werden kann. In jedem Falle müssen die Kolonieen erst vom Malachitgrün-Glyzerinserum auf die übrigen Nährböden übertragen werden. Diesem Uebelstande würde die Antiforminmethode abhelfen, die Verwendung eines Zwischennährbodens könnte in jedem Falle vermieden werden, stets könnte sofort auf dem gewünschten Nährsubstrat gezüchtet werden. Denn nach meinen Versuchen zur Züchtung der säurefesten Saprophyten tötet das Antiformin in 15-proz. Lösung mit Sicherheit sämtliche Begleitbakterien ab — nach Uhlenhuth lösen sich im Antiformin sämtliche Bakterien mit Ausnahme der Tuberkel- und säurefesten Bacillen „wie Zucker in Wasser“ — nur die säurefesten Mikroorganismen behalten für bestimmte Zeit ihre Lebensfähigkeit.

Als sicherste Methode zur Züchtung der säurefesten Saprophyten kann vorläufig also die Antiforminmethode angesprochen werden. Ob eventuell Modifikationen nötig sind, müssen weitere und eingehendere Untersuchungen zeigen.

Literatur.

1) Lehmann, K. R., und Neumann, R. O., Atlas und Grundriß der Bakteriologie. München 1907.
2) Piatkowski, S., Ueber eine neue Eigenschaft der Tuberkel- und anderer säurefester Bacillen. (Dtsche med. Wochenschr. Jahrg. XXX. 1904. p. 878.)
3) Spengler, Tuberkelbacillenzüchtung aus Bakteriengemischen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 42. p. 90.)

4) Uhlenhuth und Kersten, Eine neue Methode zum kulturellen und mikroskopischen Nachweis von Tuberkelbacillen im Sputum und anderem tuberkulösen Material. (Festschrift zu Ehren von Brieger.) (Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie. Bd. 6. 1909. Heft 3. p. 759—776.)
5) Uhlenhuth und Xylander, Antiformin, ein bakterienauflösendes Desinfektionsmittel. (Berl. klin. Wochenschr. Jahrg. 45. 1908. p. 1346—1349.)
6) Weber und Taute, Die Kaltblütertuberkulose. (Tuberkulosearbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 1905. Heft 3. p. 110—142.)

Nachdruck verboten.

Das Freiburger hämorrhagische Mäusecarcinom.

[Aus dem Untersuchungsamt des Hygienischen Instituts der Universität Freiburg i. B.]

Von Dr. med. **E. Küster,** Privatdozent.

Mit 1 Figur.

Seit etwa 20 Jahren wird in dem Hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B. ein Stamm weißer Mäuse gezüchtet. Die Tiere werden in einfachen Holzkisten von 35 : 35 : 45 cm gehalten, an denen zwei mit Drahtgewebe verschlossene Luftlöcher von 10 : 10 cm angebracht sind. Als Streu dient Stroh, als Futter wird Brot in Milch eingeweicht, zuweilen werden auch Gelbrüben, Weizen und Hanfsamen verabfolgt. Wir ziehen pro Jahr ungefähr 500 Mäuse, so daß unsere Gesamtproduktion in der angegebenen Zeit auf ungefähr 10000 Stück veranschlagt werden darf; dabei fand niemals eine Blutauffrischung durch Einführung fremder Zuchtmäuse statt, und häufig wurde der Bestand bis auf etwa 50 Tiere aufgebraucht, aus denen dann die Weiterzucht erfolgen mußte. Gerade dieser letztere Umstand erscheint uns für die Beurteilung der Größe der Inzucht von besonderer Wichtigkeit, denn wenn Nachkommen derselben Stammeltern mehrere Generationen hindurch rein fortgezüchtet werden und später dann eine Kreuzung der beiden Linien stattfindet, so werden dadurch praktisch die Schäden der Inzucht vermieden. Da dies bei den von uns gezüchteten Mäusen, wie erwähnt, nicht der Fall war, so dürfen wir von einer Incestzucht sprechen. Die Fortpflanzungsfähigkeit und die Konstitution, soweit sie sich aus dem äußeren Habitus beurteilen läßt, hat bei unseren Mäusen jedenfalls nicht gelitten, doch sahen wir eine andere Erscheinung auftreten, die vielleicht dem Mangel an Blutauffrischung zugeschrieben und als Zeichen von Degeneration bezeichnet werden muß: nämlich ein gehäuftes Auftreten von Tumorenbildungen.

Die ersten Tumoren wurden vor etwa 12 Jahren beobachtet; sie traten bei älteren Tieren, und zwar vorzugsweise bei Weibchen auf. Nur einmal wurde mit Sicherheit bei einem Männchen Tumorbildung beobachtet. Die Tumorgröße schwankt von Erbsen- bis Doppelwalnußgröße. Die Geschwülste pflegen sich in relativ kurzer Zeit zu entwickeln und führen bei der größten Anzahl der befallenen Tiere in 4—6 Wochen unter Ulceration der Oberfläche zum Tode. Nur äußerst selten haben wir ein Abheilen oder Zurückgehen der Geschwulstbildung beobachtet, aber auch diese spontan genesenen Tiere sind in ihrer Lebenskraft meist so geschwächt, daß sie in absehbarer Zeit verenden. Die Geschwülste haben äußerlich, wenigstens in späteren Stadien, eine lividrote Farbe und eine bald knollige, bald glatte Oberfläche. Die Haut über den Tumoren ist meist dünn ausgespannt, durchscheinend, anfangs verschieblich, pflegt aber später häufig mit der Geschwulst fest zu verwachsen.

Den Tumoren legten wir anfangs wenig Bedeutung bei, nur wurde gelegentlich festgestellt, daß im Innern des Tumorgewebes große Blutcysten sich vorfanden. In den letzten Jahren traten nun die Tumoren immer häufiger auf, und so begann ich vor $2^1/_2$ Jahren, angeregt durch das erhöhte Interesse für Krebsforschung, mit unseren Mäusetumoren zu experimentieren.

Zunächst wurden die Mäuse, welche an Spontantumoren erkrankt waren, sorgfältig anatomisch und histologisch untersucht. Die Resultate seien an dieser Stelle kurz zusammengefaßt. Untersucht wurden im ganzen 24 Tumoren, darunter fanden sich 8mal je 1 Tumor am oralen Teil der Brust, 2mal je 1 Tumor in der Inguinalgegend; 11 Mäuse hatten Tumoren der seitlichen Brustwand, 2 hatten Doppeltumoren an Axilla und Inguinalgegend, 1 Tier an Brust- und Massetergegend. Vier von diesen 24 Mäusen zeigten schon makroskopisch innere Metastasen in den Lungen. Alle Tumoren erwiesen sich bei der histologischen Untersuchung als Adenoma cysticum oedematosum s. haemorrhagicum und Cystocarcinoma haemorrhagicum (Apolant), doch zeigten sich in dem hämorrhagischen Charakter weitgehende Differenzen: bald waren die Bluträume nur mikroskopisch zu erkennen, bald bestand der ganze Tumor nur aus einem dünnen soliden Randgewebe, während das Zentrum erweicht und in eine große Blutcyste umgewandelt war.

Wir versuchten schon damals (im Jahre 1906), einen Teil der gefundenen Tumoren zu übertragen und behandelten im ganzen mit 5 Tumoren 22 Mäuse. Die verschiedensten Methoden wurden versucht. Wir brachten kleine Tumorstückchen in Hauttaschen oder in die freie Bauchhöhle, wir spritzten fein verriebenen Tumorbrei, der durch sterile Leinwand filtriert war, subkutan, intraperitoneal und intrapleural ein; alles vergebens. Der Erfolg dieser Versuchsreihe war durchweg negativ.

Als dann von anderer Seite Veröffentlichungen erfolgten, die die Ueberimpfbarkeit hämorrhagischer Mäusecarcinome überhaupt in Frage stellten, gaben wir die Versuche zunächst als aussichtslos auf, um unser Augenmerk der ätiologischen Seite der Tumorentstehung zuzuwenden.

War es doch auffallend, daß in unserer Zucht[1]) das hämorrhagische Mäusecarcinom so relativ oft und immer häufiger auftrat (zuletzt 1 bis 2 Proz. aller Tiere), während andere Zuchtstämme hier in Freiburg nicht diese Erscheinungen boten.

Da das Auftreten der Tumoren an bestimmte Zuchtkisten nicht gebunden war, so hielten wir es für möglich, daß die ganze Art unserer Tierhaltung vielleicht ein prädisponierendes Moment abgegeben hätte, und versuchten durch Verschlechterung der Lebensbedingungen ein noch stärkeres Auftreten von Spontantumoren zu erzielen: Eine größere Anzahl älterer Tiere, hauptsächlich Weibchen, wurden in einen Stall zusammengebracht, der Stall wurde nicht gereinigt, das Futter bald überreichlich, bald möglichst kärglich zugemessen; wir änderten die Art des Futters, gaben viel Fleischabfälle, frisches Hühnereiweiß, ließen die

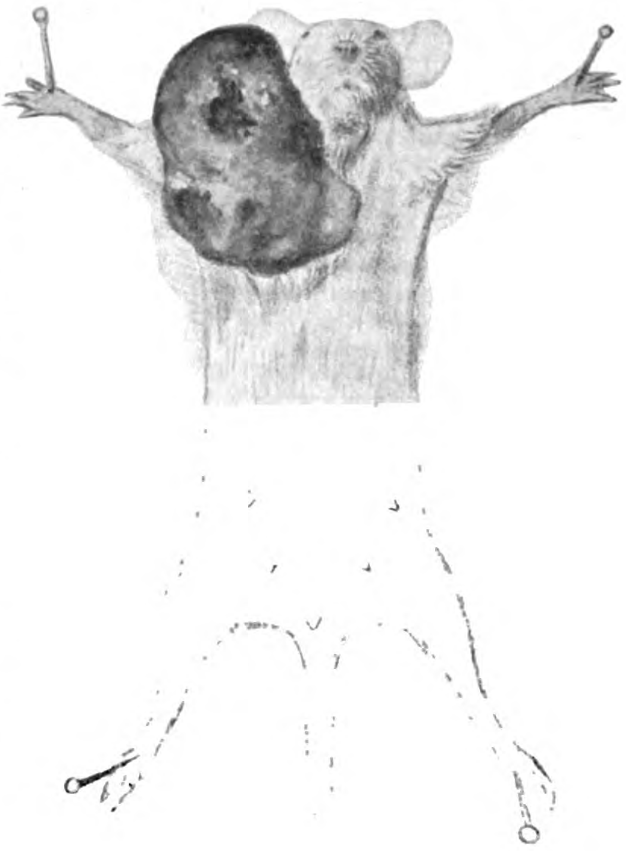
---

1) Die in der Mäusezucht der Freiburger Universitätsaugenklinik und psychiatrischen Klinik beobachteten hämorrhagischen Mäusecarcinome treten bei Mäusen auf, deren Stammeltern vor wenigen Jahren von uns bezogen wurden. Von Zuchtstämmen, die von uns nach auswärts verschickt wurden, ist uns bisher ein gleiches Verhalten nicht bekannt geworden.

spontan eingehenden Tiere im Stall liegen, trotzdem traten seit 2 Jahren unter diesen Bedingungen im Verhältnis nicht mehr Tumoren auf als in der übrigen Zucht.

Die Erfolge englischer Autoren und die Mitteilungen von Hertwig und Poll über gelungene Uebertragungsversuche mit hämorrhagischen Mäusecarcinomen ließen uns in diesem Frühjahr Ueberimpfungen aufs neue versuchen.

Ende Februar wurde bei einer Maus ein etwa walnußgroßer Tumor der rechten Axillargegend gefunden, und da diese Geschwulst bei einer wenige Wochen vorher stattgefundenen Revision der Mäuse nicht aufgefallen war, so mußten wir annehmen, daß es sich um ein sehr kräftig und rasch wachsendes Carcinom handelte. Bei der operativen Entfernung ergab sich, daß der Tumor mit der seitlichen Brustwand so fest verwachsen war, daß er auf stumpfem Weg ohne starke Blutung nicht lospräpariert werden konnte; wir zogen es daher vor, eine Massenligatur um die Basis zu legen und mit Schnitt abzutragen. Das Tier überstand die Operation. Der Tumor wurde in steriler, warmer, physiologischer Kochsalzlösung mit der Schere in Stückchen von 30—50 cbmm zerteilt und diese Stückchen mit der Pincette bei 30 Mäusen in der linken Inguinalgegend tief unter die Haut geschoben. Nach 3 Wochen ließ sich bei vier von den geimpften Mäusen ein Weiterwachsen des eingebrachten Tumorstückchens konstatieren, und zwar entstanden bei drei (a, b, c) linksseitige Tumoren der Brustwand, bei einer (d) ein linksseitiger Inguinaltumor. In weiteren 3 Wochen waren diese Tumoren zu etwa Haselnußgröße herangewachsen, während gleichzeitig bei der operierten Ausgangsmaus ein rasch wachsendes lokales Rezidiv und außerdem ein Tumor der gleichseitigen Massetergegend aufgetreten war; letzterer darf vielleicht als Metastase aufgefaßt werden, zumal eine spätere Sektion ergab, daß auch in der rechten Lunge sich eine große Metastase entwickelt hatte.



Hämorrhagisches Mäusecarcinom.
Spontantumor No. 6.

Die erste Uebertragung war demnach in 13 Proz. der geimpften Tiere gelungen, und es handelte sich nun darum, festzustellen 1) ob

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die erzeugten Tumoren wiederum dem hämorrhagischen Typus angehörten oder ihre Art geändert hatten, und 2) ob eine weitere Uebertragung auf frische Mäuse möglich war, denn es wurden bekanntlich wiederholt bei Mäusen Tumoren beobachtet, die sich nur in einer Generation verimpfen ließen.

Bei den Mäusen a, b und d wurden die Impftumoren auf operativem Wege entnommen und dabei festgestellt, daß sie im Gegensatz zu dem Ausgangstumor ohne Unterbindung sich leicht herausschälen ließen, da sie nur in lockerem Bindegewebe saßen. Leider gingen zwei der operierten Mäuse später durch einen unglücklichen Zufall zugrunde; eine blieb am Leben und ist bis heute (nach 14 Wochen) noch ohne Rezidiv.

Von Tumor a wurden 20 Mäuse geimpft, und zwar 10 nach der Ehrlichschen Methode mit Tumorbrei subkutan mit Glaskapillaren; es wuchs 1 Tumor = 10 Proz; 10 Mäusen wurden subkutan größere Stückchen eingebracht, 3 wuchsen an = 30 Proz.

Von Tumor b wurden 20 Mäuse in der Weise geimpft, daß mehrere kleine Stückchen in eine dicke Lumbalpunktionsnadel geladen wurden; diese Nadel wurde an der Inguinalgegend eingeführt, subkutan bis zur Axilla vorgeschoben und dort durch Einführen des dicht ausfüllenden Mandrin geleert. Leider blieben nur 12 der geimpften Mäuse am Leben; aber bei 4 von diesen, also in 33 Proz., entstanden Tumoren, bei einigen sogar gleichzeitig mehrere; wahrscheinlich waren bei letzteren die Tumorstückchen bei dem Zurückziehen der Nadel an verschiedenen Stellen deponiert worden. So zeigte z. B. die Maus Journalnummer XIII drei hämorrhagische Tumoren. Nach diesen günstigen Resultaten, welche bei Anwendung der Impfnadel erzielt waren, wurde bei späteren Impfungen nur noch diese Methode verwandt.

Von Tumor c wurden 10 Mäuse geimpft mit dem Erfolg, daß bei einem Tier sich ein Tumor an der Impfstelle entwickelte.

Endlich wurden von dem lokalen Rezidiv, welches sich bei der Spontantumormaus an der Operationsstelle gebildet hatte, nochmals 10 Mäuse geimpft. Von dieser war diesmal die Ausbeute weit größer als bei der ersten Ueberimpfung, denn bei 3 Mäusen, also bei 30 Proz. (gegenüber 13 Proz.), ging die Uebertragung an. 2 Mäuse, welche mit dem neu entstandenen Kiefertumor geimpft wurden, ergaben kein positives Resultat.

Bei jeder operativen Entfernung eines Tumors wurde sofort ein Teil in 10-proz. Formalinlösung gebracht und dann histologisch untersucht; ebenso wurde ein Tumor der zweiten Uebertragungsserie nach vierwöchentlichem Wachstum eingebettet und an Schnittpräparaten untersucht. Der mikroskopische Befund der gefärbten Schnitte, welcher später noch ausführlich veröffentlicht werden soll, ergab kurz zusammengefaßt folgendes: Die Tumoren behalten bei der Uebertragung ihren hämorrhagischen Charakter bei, doch scheint die Bildung von Blutcysten zu der Wachstumsschnelligkeit im umgekehrten Verhältnis zu stehen, so daß bei den schnellwüchsigen Tumoren ein mehr alveolärer Charakter des Carcinoms hervortritt, ebenso scheint die alveoläre Struktur mit der Anzahl der Uebertragungen zuzunehmen; ein definitives Urteil wird erst möglich sein, wenn der Tumor in mehr Generationen fortgezüchtet ist.

Unsere Untersuchungen haben also eine Uebertragbarkeit des Freiburger hämorrhagischen Mäusecarcinoms und eine Steigerung der Virulenz in zwei Uebertragungen erwiesen. Die Versuche werden weiter fortgesetzt, zunächst um zu ermitteln, ob es möglich ist, durch Züchtung aus erfolgreich operierten Tumormäusen Stämme zu gewinnen, welche eine erhöhte Empfänglichkeit für Tumoren besitzen.

Zur Zeit wächst das hämorrhagische Carcinom in dritter Uebertragung.

Nachdruck verboten.

Durch Bakteriengifte erzeugte „Purpura haemorrhagica“.

[Aus dem path.-anat. Institut (Vorstand: Hofrat Weichselbaum) und der II. chir. Universitätsklinik in Wien (Vorstand: Hofrat Hochenegg).]

Von Dr. **Hans Heyrovsky,** Assistenten der Klinik.

Eine Anzahl von Erkrankungen des Menschen geht bekanntlich mit hämorrhagischer Diathese einher. Die Aetiologie dieser Erkrankungen ist ungemein verschieden. Sie wurden jedoch von altersher wegen des gemeinschaftlichen und auffälligsten Symptoms, den Gewebsblutungen, vom einheitlichen Gesichtspunkte aus betrachtet und unter dem Begriff Purpura zusammengefaßt.

Allen diesen Erkrankungen ist das Auftreten von mehr oder weniger ausgedehnten Blutungen in verschiedenen Teilen des Körpers gemeinsam.

Die Blutungen können bedingt sein durch einfache mechanische Schädigung der Gefäßwand und Störungen des Kreislaufes infolge hohen Blutdruckes (mechanische Purpura, Purpura cardiaca), durch Erkrankungen der Gefäße (z. B. Purpura senilis), Erkrankungen des Blutes (Purpura anaemica, leucaemica), durch hereditäre Neigung zu Blutungen (Haemophilie), nervöse Einflüsse, Intoxikation verschiedenen Ursprungs, Bakterienwirkung und endlich Kombination verschiedener ebengenannter Noxen.

Die durch Einwirkung von pathogenen Mikroorganismen bedingten Purpuraformen müssen auf besondere, das Gefäßsystem in erster Linie schädigende, uns noch unbekannte Gifte zurückgeführt werden.

Diese Giftwirkung kann vor allem an dem von den Bakterien befallenen Orte ausgelöst werden. So werden die bei septikopyämischen Prozessen vorkommenden Hautblutungen, Dermatitis pyaemica haemorrhagica, wie Finger, Pezzoli und Letzerich nachgewiesen haben, in der Regel durch bakterielle Embolieen, also durch unmittelbare Einwirkung der Bakterien auf die Gefäßwand, hervorgerufen. In anderen Fällen, bei welchen der Nachweis der Bakterien in den Gewebsblutungen trotz sorgfältiger bakteriologischer Untersuchungen mißglückt war, wird angenommen, daß Bakteriengifte fern vom Orte ihrer Produktion, nachdem sie resorbiert wurden und im Blute kreisen, zur Wirkung gelangen.

Babes, dem zweifellos das Verdienst gebührt, eine Reihe von hämorrhagischen Infektionen des Menschen unserem Verständnis nähergebracht zu haben, hat auf Grund von bakteriologischen Untersuchungen darauf hingewiesen, daß sowohl die Hämorrhagieen bei einer Anzahl von Infektionskrankheiten, als auch bei den scheinbar primären idiopathischen Blutfleckenkrankheiten (Skorbut, Purpura simplex, P. haemorrhagica, P. rheumatica, Morbus maculosus Werlhofii), der Ausdruck eines der

Septikämie nahestehenden Symptomenkomplexes sind, und daß sowie bei der Septikämie, es auch bei Purpura Formen gibt, wo der Erreger selbst den Organismus überschwemmt, und andere, wo derselbe lokalisiert bleibt und durch seine chemischen Produkte die Allgemeinerkrankung bewirkt.

So hat Babes mit einem aus dem Zahnfleisch Skorbutkranker isolierten Bakterium bei Tieren eine hämorrhagische Infektion erzeugen können und hält den Morbus maculosus Werlhofii auf Grund einer großen Reihe von Sektionsbefunden, bei welchen er regelmäßig putride Pharyngitis, Amygdalitis, Bronchitis gefunden hat, für den Ausdruck einer Infektion.

Nach Babes sind bei den verschiedenen Fällen der idiopathischen Purpura die Erreger verschieden. Die Ansichten anderer Forscher sind bezüglich der Aetiologie der echten idiopathischen Blutfleckenkrankheit noch sehr different.

Es liegt außerhalb des Rahmens dieser Abhandlung, die zahlreichen, angeblich spezifischen Erreger der idiopathischen Purpuraformen zu beschreiben und auf die vorwiegend kasuistische Literatur der Purpura idiopathica näher einzugehen. Bei der Durchsicht der diesbezüglichen Literatur kommt man zu der Ueberzeugung, daß auch die idiopathische Purpura keine ätiologische Einheit und kein selbständiges Krankheitsbild ist, vielmehr lediglich ein Symptomenkomplex.

Zu zahlreichen Formen der idiopathischen Purpura haben zweifellos lokale Streptokokkenprozesse gewisse Beziehungen. Die bakteriologischen Untersuchungen des Blutes sowie der Blutungen bei solchen Fällen führen gewöhnlich zu keinem Resultate; es liegt deshalb die Vermutung nahe, daß von einem Herd im Körper resorbierte Bakteriengifte die hämorrhagische Diathese erzeugen, um so mehr, da es zweifellos gelingt, mit sterilen Bakteriengiften hämorrhagische Exantheme zu erzeugen.

Babes war meines Wissens der erste, dem es gelungen ist, mit Kulturfiltraten eines aus hämorrhagischer Sepsis gezüchteten Stäbchens bei Versuchstieren hämorrhagisches Oedem an der Injektionsstelle zu erzeugen.

Kolb fand bei 3 Fällen von tödlich endender, scheinbar primärer idiopathischer Purpura Bacillen, deren Kulturfiltrate bei Versuchstieren eine ähnliche hämorrhagische Erkrankung erzeugten.

Auch die uns näher bekannten Bakteriengifte, z. B. Diphtherietoxin, können ein hämorrhagisches Exanthem erzeugen. Grenet unterband bei Kaninchen temporär die Lebergefäße, so daß rapide degenerative Prozesse der Leber auftraten, und konnte dann nach Injektion eines Serum purpurakranker Menschen oder von Diphtherietoxinen und anderen Giften hämorrhagische Diathese bei Versuchstieren erzeugen. Er hält für das Zustandekommen der Erkrankung eine Alteration der Leber, des Nervensystems und eine Intoxikation für notwendig.

Bei der Durchsicht der kasuistischen Literatur der Purpura haemorrhagica finden sich zahlreiche Fälle, bei denen eine Infektion mit Kokken der Streptokokkengruppe in ätiologischer Beziehung zu der hämorrhagischen Diathese zu stehen scheint. So ist eine Reihe von typischen Fällen des Morbus maculosus Werlhofii beobachtet worden, die nach typischer Angina tonsillaris auftraten (Bruch und seine Literatur).

Rasch fand unter 20 Fällen von Purpura 2 Fälle bei chronischen Bronchiektasien, und spricht die Vermutung aus, daß die aus den

Bronchiektasien resorbierten Streptokokkengifte die Ursache der Purpura sein könnten.

Babes fand bei Sektionen von Kindern mit typischem Morbus maculosus Werlhofii putride Pharyngitis, Bronchitis, Amygdalitis.

Die Kokken der Streptokokkengruppe sind bekanntlich die häufigsten Erreger der hämorrhagischen Septikopyämie. In den bei dieser Erkrankung vorkommenden Hautblutungen sind keinesfalls immer Kokken nachweisbar. Die Hämorrhagieen müssen also auf die Einwirkung der Streptokokkengifte zurückgeführt werden.

Der wissenschaftliche Beweis, daß man mit Streptokokkengiften purpuraähnliche Erkrankungen bei Versuchstieren erzeugen kann, wurde bisher aber nicht erbracht. Ich halte deshalb die ausführliche Beschreibung meiner bereits in einer vorläufigen Mitteilung[1]) veröffentlichten Versuche, bei welchen es mir gelungen ist, mit Giften zweier Streptokokkenarten eine hämorrhagische Diathese bei Mäusen zu erzeugen, für gerechtfertigt.

Zu meinen Versuchen benutzte ich keimfreie Filtrate von Glykose-Bouillonkulturen typischer Stämme des Diplococcus pneumoniae und Streptococcus mucosus. Die beiden Bakterienarten gehören zur Gruppe der Streptokokken und stehen einander, wie aus den Untersuchungen letzterer Zeit hervorgeht, biologisch sehr nahe. Die beiden Kokkenarten gedeihen in einer Glykosebouillon (Zusammensetzung: Fleischwasser, 0,5 Proz. Kochsalz, 1 Proz. Witte-Pepton, 1 Proz. Glykose, Alkaleszenz eben deutliche Rötung des Phenolphtaleins) außerordentlich üppig, sterben jedoch in verhältnismäßig kurzer Zeit in ihren eigenen Stoffwechselprodukten ab und zerfallen. Eine 24-stündige Kultur ist in der Regel bereits nicht überimpfbar und vermag in beliebiger Dosis eine für diese Kokken sonst sehr empfängliche weiße Maus nicht mehr zu infizieren[2]). Die ursprünglich diffus dichtgetrübte Kulturflüssigkeit klärt sich nach kurzer Zeit auf und in spärlichem Sediment lassen sich nur geschrumpfte, zu Häufchen zusammengeballte und sich schlecht färbende Kokkenformen nachweisen. Ein Teil der Bakterienleiber geht in solchen Kulturen, wie es sich durch eine Präzipitinreaktion mit entsprechendem Immunserum nachweisen läßt, in Lösung über. Eine solche Kulturflüssigkeit enthält demnach eine beträchtliche Menge von Stoffwechselprodukten und gelösten Bakterienleibern.

Die mit keimfreien Filtraten einer solchen Kultur einer Anzahl von Stämmen beider Kokkenarten intraperitoneal geimpften Mäuse zeigen in kurzer Zeit nach der Injektion folgende Erscheinungen:

Nach ca. 4—6 Stunden treten am Schweife rote, runde, flache oder leicht erhabene, roseolaähnliche Effloreszenzen in verschiedener Zahl auf, welche später eine lividrote Farbe annehmen. Gleichzeitig oder etwas später schwellen die Pfoten der Tiere hochgradig an.

Dieses Oedem schwindet in einigen Stunden und macht einer lividroten Verfärbung der ganzen Pfote Platz. Zuweilen schwellen nur die einzelnen Zehen an und nehmen später die erwähnte Verfärbung an. Häufiger zeigen die Hinterpfoten diese Veränderungen. An den Ohren treten nach derselben Zeit zahlreiche Blutflecke von verschiedener Form und Größe auf. Aehnliche Erscheinungen wie an den Pfoten treten zuweilen am Scrotum auf. Die dichtbehaarten Körperstellen bleiben häufig vollkommen frei, nur einzelne Tiere waren mit petechienähnlichen Blutungen der behaarten Haut förmlich übersät. Das allgemeine Befinden der Tiere scheint nicht erheblich gestört zu sein. Nur die stark reagierenden Tiere zeigen schleimige oder schleimig-blutige Diarrhöen, verklebte Augenlider und verminderte Freßlust. Die beschriebenen Hautveränderungen bilden sich im Laufe von einigen Tagen unter gelblicher Verfärbung der betreffenden Hautpartie vollkommen zurück. Die Tiere bleiben meistens am Leben. Bei den eingegangenen oder durch Inhalation von Aether getöteten, erkrankt gewesenen Mäusen fanden sich bei der Sektion außer den beschriebenen Veränderungen der Haut Hämorrhagieen des harten Gaumens, der Lungen, der Schleimhaut des Darmes, des Peritoneums parietale und viscerale, periartikuläre und intramuskuläre Blutungen an den Extremitäten und Hyperämie der Nieren.

---

[1]) Wiener klin. Wochenschr. 1907. No. 9.

[2]) Heyrovsky, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 38. Heft 6.

Sämtliche eben beschriebene Veränderungen der Organe, welche, wie im voraus bemerkt werden soll, im histologischen Bilde nicht nur aus bloßen Hämorrhagieen, sondern auch aus mehr oder weniger ausgesprochenen entzündlichen Veränderungen der Gewebe bestehen, müssen auf die Wirkung eines mit dem Kulturfiltrate einverleibten Bakteriengiftes zurückgeführt werden.

Sie werden zum Teil durch lokale Einwirkung des Giftes, zum Teil durch Wirkung des resorbierten Giftes aus dem Kreislaufe hervorgerufen. Bei subkutaner Einverleibung des Giftes entsteht an der Injektionsstelle eine hämorrhagische Entzündung. Bei intraperitonealer Einspritzung sind die subserösen Blutungen des Peritoneums parietale und viscerale sowie die hämorrhagische Entzündung des Scrotums auf lokale Wirkung zurückzuführen. Bei intraperitonealer Impfung verteilt sich nämlich die injizierte Kulturflüssigkeit zum Teil in der Bauchhöhle und erzeugt subseröse Hämorrhagieen des Peritoneum parietale und viscerale, zum Teil sammelt sich dieselbe durch Einwirkung der Bauchpresse in dem offenen Processus vaginalis im Scrotum. Daselbst entsteht eine hochgradige, sich bis zur Haut des Scrotums erstreckende hämorrhagische Entzündung.

Das hämorrhagische Exanthem der Haut ist auf die Wirkung des resorbierten und im Blute kreisenden Giftes zurückzuführen.

Bemerkenswert ist nun, daß die Hämorrhagieen der Haut an Stellen entstehen, welche einem geringfügigen mechanischen Insulte nach Einverleibung des Giftes ausgesetzt waren. So findet sich häufig bei geimpften Tieren eine große Hämorrhagie im Nacken an derjenigen Stelle, wo die Maus beim Impfen gefaßt werden mußte. Auf geringfügige Quetschung des Ohres, welche bei normaler Maus keinerlei Spuren hinterläßt, reagiert die geimpfte Maus mit ausgedehnter Blutung. Wird einer normalen Maus der Rand des Ohres mit einer Schere abgetragen, so entsteht in der unmittelbaren Umgebung der Wunde eine leichte Hyperämie, während die geimpfte Maus mit einer ausgedehnten hämorrhagischen Entzündung auf dieses Trauma reagiert. Unverkennbar ist endlich die Lokalisation des Exanthems an den abschüssigen Partieen des Körpers, namentlich an den Pfoten.

Die Reaktion der Tiere auf eine gleiche Dosis des einverleibten Giftes ist eine außerordentlich verschiedene.

Während eine Anzahl der Tiere mit einem ausgedehnten hämorrhagischen Exanthem und Blutungen in den inneren Organen reagiert, finden sich bei einer großen Zahl geimpfter Mäuse nur vereinzelte

Effloreszenzen am Schweif und an den Ohren. Eine Anzahl der Tiere verhält sich entweder vollkommen refraktär, oder es entsteht eine Blutung nur nach einem geringfügigen Trauma. Den meisten Versuchstieren wurde eine Menge von einem halben Kubikcentimeter bis einem ganzen Kubikcentimeter des Kulturfiltrates intraperitoneal injiziert. Mit den Kulturfiltraten verschiedener Stämme des Streptococcus mucosus wurden 74 Mäuse injiziert, davon reagierten 22 Mäuse stark, 12 schwach, bei 4 Mäusen konnte man Hämorrhagieen durch geringfügiges Trauma erzeugen, 35 verhielten sich refraktär. Mit den Kulturfiltraten verschiedener Stämme des Diplococcus pneumoniae wurden 16 Mäuse injiziert. Davon reagierten 4 stark, 3 schwach, 9 verhielten sich refraktär. Einige in kurzen Zeitintervallen wiederholt injizierte Mäuse gingen nach mehreren Nachschüben von Blutungen ein. Bei anderen, in kurzen Zeitintervallen geimpften Mäusen blieben die Nachschübe aus.

In der Wirkung der Kulturfiltrate der beiden Kokkenarten ließ sich kein nennenswerter Unterschied feststellen.

Zum Zwecke der histologischen Untersuchung der eben beschriebenen Veränderungen wurden aus sämtlichen Organen einer Anzahl von Mäusen Paraffinschnitte angefertigt und mit Hämalaun-Eosin, Farbstoff nach Jenner-Stein, van Gieson, Gram-Weigert und Elastikafarbstoff nach Weigert gefärbt.

Vor allem wurde eine Anzahl von Tieren nach der Injektion von Kulturfiltraten, bevor noch makroskopisch sichtbare Veränderungen der Haut auftraten, getötet und diejenigen Stellen, wo gewöhnlich Blutungen reichlich auftreten, namentlich Ohren und Haut des Schweifes, histologisch untersucht. Auf diese Weise konnten die eben beginnenden, makroskopisch noch nicht sichtbaren Veränderungen der Haut untersucht werden. Es ließen sich bereits 2 Stunden nach der Injektion des Giftes folgende histologische Veränderungen der Haut nachweisen:

Starke Erweiterung der kapillären und präkapillären Gefäße des Corium, vorwiegend in der Umgebung der Haarbälge und Talgdrüsen. Anhäufung von polynukleären Leukocyten im Gefäßlumen, Auswanderung von polynukleären Leukocyten. Einzelne rote Blutkörperchen lagen neben polynukleären Leukocyten bereits extravaskulär im aufgelockerten perivaskulären Gewebe. Eine Rhexis der Gefäße konnte mit Sicherheit nicht nachgewiesen werden.

In den bereits makroskopisch sichtbaren Blutungen des Ohres fand sich eine ausgesprochene Entzündung mit serös hämorrhagisch zelligem, stellenweise auch fibrinösem Exsudat. Die Kapillaren hochgradig erweitert, stellenweise reichlich Leukocyten enthaltend. Perivaskulär gelegene Leukocytenherde zum Teil mit Kernzerfall. In den mehr isolierten, runden Effloreszenzen am Schweif, im Stratum papillare und in den tieferen Schichten des Coriums entzündliche Herde mit vorwiegend aus polynukleären Leukocyten, spärlich aus roten Blutkörperchen bestehendem Exsudat. Anhäufung von polynukleären Leukocyten in erweiterten Kapillaren, an zahlreichen Stellen Leukocyten in Auswanderung begriffen.

In der Haut der Pfoten fand sich die Epidermis durch ein seröses Exsudat vom Stratum papillare zum größten Teil abgehoben, an anderen Stellen lag ein seröses Exsudat zwischen der basalen Schicht der Epidermis und den abgehobenen oberen Zellschichten. Das Bindegewebe des Corium aufgelockert, von einem serös-hämorrhagischen Exsudat durchsetzt. In den erweiterten Kapillaren und deren Umgebung reichlich polynukleäre Leukocyten.

Was nun die histologische Untersuchung der inneren Organe anbelangt, so fanden sich im Darm ausgedehnte, subseröse und intramuskuläre Blutungen, sowie auch Blutungen in der Tunica propria mucosae. Die entzündlichen Veränderungen waren hier weniger ausgesprochen, nur stellenweise fanden sich um erweiterte Gefäße Anhäufungen von polynukleären Leukocyten. Im schleimigen Inhalt des Dünn- und Dickdarmes ließ sich ebenfalls Blut nachweisen. In der Schleimhaut des harten Gaumens fanden sich ausgedehnte Blutungen im submukösen Bindegewebe. In den Lungen fanden sich histologisch größere, unregelmäßig begrenzte Herde, in welchen die Kapillaren der Alveoli erweitert, die Alveoli mit Blut erfüllt waren. In der Niere ließen sich keine nennenswerten Veränderungen nachweisen; im Scrotum fand sich eine hochgradige hämorrhagische Entzündung der Subserosa des Processus vaginalis mit serös-hämorrhagisch-fibrinös-zelligem Exsudat.

In den mit Methylenblau und nach Gram-Weigert gefärbten Schnitten sämtlicher beschriebener Veränderungen ließen sich nirgends Bakterien nachweisen.

Die eben beschriebenen Veränderungen, welche auf die Giftwirkung des einverleibten Kulturfiltrates bezogen werden müssen, sind den Symptomen der idiopathischen Purpura des Menschen außerordentlich ähnlich. Daß diese Aehnlichkeit keine zufällige ist, dafür sprechen wohl noch folgende Tatsachen:

Bekanntlich läßt sich beim Menschen, wie namentlich Hecht mittels dosierter Saugwirkung nachgewiesen hat, bei idiopathischer Purpura eine verminderte Resistenz der Hautgefäße nachweisen. Bei jedem geringfügigen Trauma, jeder Irritation der Haut treten bei Purpurakranken Blutungen auf.

Auf dem Mißverhältnis zwischen Blutdruck und Gefäßfestigkeit beruht auch die Tatsache, daß die Blutungen der Haut bei Purpurakranken sich vorwiegend an den abschüssigen Teilen des Körpers lokalisieren und daß man bei diesen Kranken durch geringfügige Stauung einer Extremität ausgedehnte Hautblutungen erzeugen kann. Bei der sogenannten Purpura urticans genügt sogar die durch den lokalen Reiz bewirkte Störung des Tonus der Hautkapillaren, um Blutungen zu erzeugen. Eine ähnliche verminderte Resistenz der Kapillaren läßt sich auch bei unseren Mäusen nachweisen. Nicht nur ein geringfügiges Trauma, sondern auch lokale reaktive Hyperämie genügt zu dem Zustandekommen der hämorrhagischen Dermatose. Wie sich zuweilen beim Menschen an den Extremitäten neben Hämorrhagieen mit Serum gefüllte Blasen finden, so ist dies auch bei der experimentellen Purpura bei Mäusen der Fall.

Was nun die in Betracht kommenden Gifte anlangt, so lassen sich dieselben aus der Kulturflüssigkeit mit absolutem Alkohol ausfällen und durch wiederholtes Auflösen in Wasser und Fällen mit Alkohol von einem Teile der in der Kulturflüssigkeit enthaltenen Substanzen trennen. Sie dyalisieren nicht und verlieren ihre Wirksamkeit auch nach längerem Kochen nicht. Diese, nach obigem Verhalten mit Wahrscheinlichkeit eiweißartigen Stoffe können nun aus dem Bakterienleibe stammen und in diesem Falle eine Art Sekretionsprodukt der Bakterien sein (analog den echten Toxinen), oder sie werden erst durch Zerfall des Bakterienleibes frei (Bakterienproteine Buchners, Endotoxine Pfeiffers). Endlich können die in Betracht kommenden Gifte unter der Einwirkung der Bakterien aus dem Nährboden gebildet werden. Die letztgenannten

Substanzen kommen mit größter Wahrscheinlichkeit nicht in Betracht. Es gelang mir erstens auch in anderen Kulturflüssigkeiten, z. B. Glykoseserum, dieselben Gifte nachzuweisen. Zweitens konnte ich aus den Bakterienleibern selbst mit destilliertem, durch Zusatz von Essigsäure leicht angesäuertem Wasser gleichwirkende Gifte extrahieren. Dagegen zeigten die bei 65° C abgetöteten und in Wasser aufgeschwemmten Kokken beider Streptokokkenarten keine Giftwirkung.

Da auch die echten Toxine nicht in Betracht kommen, glaube ich annehmen zu müssen, daß es sich um durch sauere Reaktion des Nährbodens chemisch veränderte Bakterienproteine handelt. Die Giftwirkung von vielen Bakterienproteinen ist bekannt. Sie erzeugen an der Injektionsstelle Entzündung, aseptische Eiterung oder Nekrose, außerdem eine febrile Reaktion. Diese Giftwirkung soll mit Giftwirkung körperfremder Eiweißsubstanzen identisch sein.

Die bei Immunisierung mit Bakterienextrakten häufig beobachtete Anaphylaxie (homologe Ueberempfindlichkeit) konnte ich bei wiederholt mit Kulturfiltraten geimpften Mäusen nicht beobachten. Ebenso konnte ich keine antigenen Eigenschaften des Giftes nachweisen. Die Anzahl meiner Versuche in dieser Richtung ist jedoch in Anbetracht der ungleichen Wirkung des Giftes bei verschiedenen Tieren derselben Species so klein, daß aus den Versuchen keine sicheren Schlüsse gezogen werden können.

Bei 7 je achtmal injizierten Mäusen konnte keine Immunität und keine Anaphylaxie nachgewiesen werden. Alle reagierten vielmehr auf einzelne Injektionen annähernd gleich stark. Nur ausnahmsweise blieb nach einer Injektion die Reaktion aus.

Bemerkenswert ist weiter, daß die beschriebenen Giftwirkungen keinesfalls bei allen Stämmen der beiden Kokkenarten nachweisbar sind. Es wurden 10 Stämme vom Streptococcus mucosus (alle Stämme aus Otitis media) und 18 Stämme vom Diplococcus pneumoniae (aus Pneumonieen, Empyem, Ulcus corneae, Meningitis) bezüglich der Giftwirkung ihrer Glykosebouillonkultur untersucht. Bei 6 Streptokokkenstämmen und 8 Diplokokkenstämmen dieser Versuchsreihe konnte trotz wiederholter Versuche keine Giftwirkung nachgewiesen werden. Diese Tatsache spricht dafür, daß es sich um Wirkung eines spezifischen Giftstoffes handelt, der sich nur bei einigen Stämmen der beiden Species findet.

Bei anderen Versuchstieren, Kaninchen, Meerschweinchen und weißen Ratten, konnte keine Reaktion, oder nur unbedeutende lokale Reaktion erzeugt werden.

Um die Wirkung der Gifte auch an Menschen studieren zu können, habe ich 2 Versuche an mir selbst ausgeführt. Im ersten Versuch injizierte ich mir subkutan auf der Streckseite des rechten Oberschenkels 1 cm des wirksamen Filtrates, also ungefähr eine Dosis, welche bei Mäusen eine allgemeine Reaktion erzeugt. Unter heftigen Schmerzen ohne sonstige Störung des Allgemeinbefindens entstand an der Injektionsstelle eine ca. 2 handtellergroße, lebhaft gerötete, sich warm anfühlende Schwellung, welche nach einigen Tagen schwand. Erst beim Rückgang der Schwellung konnte eine gelbliche Verfärbung der Haut im Bereiche der Entzündung wahrgenommen werden.

Im zweiten Versuche injizierte ich mir $^1/_2$ cm eines sterilen Filtrates subkutan an der Streckseite des linken Oberarmes. Nach einigen Stunden trat eine ähnliche Reaktion wie beim ersten Versuche auf. Während jedoch an der Injektionsstelle die Schwellung im Rückgang begriffen war, schritt die Entzündung am Rande ähnlich wie beim Erysipel weiter und schwand erst dann, nachdem sie annähernd das obere Drittel des Unterarmes eingenommen hatte. Fiebererscheinungen waren nicht vorhanden. Gelbe Verfärbung der Haut trat nicht auf.

In der am 2. Tage an der Injektionsstelle mit subkutanem Zellgewebe exzidierten Haut ließ sich mikroskopisch eine akute Entzündung mit serös-zellig hämorrhagischem Exsudat des Unterhautzellgewebes nachweisen. Die Wunde nach der Exzision wurde genäht und heilte per primam.

Kurz zusammengefaßt ergaben meine Untersuchungen folgende Tatsachen: Durch Injektion von keimfreien Kulturfiltraten einer Reihe von typischen Stämmen des Diplococcus pneumoniae und Streptococcus mucosus läßt sich bei weißen Mäusen ein, der Purpura haemorrhagica des Menschen äußerst ähnliches Krankheitsbild erzeugen.

Bei den injizierten Tieren läßt sich neben dem hämorrhagischen Exanthem und Gewebsblutungen eine verminderte Resistenz, bezw. gesteigerte Durchlässigkeit der Gefäße nachweisen.

Die Wirkung des resorbierten Giftes beginnt mit lokaler Erweiterung der Kapillaren, Anhäufung von Leukocyten im Gefäßlumen und Austritt von weißen und roten Blutkörperchen.

Diese Giftwirkung der Kulturfiltrate ist auf die gelösten, durch saure Reaktion des Nährbodens chemisch veränderten Eiweißkörper des Bakterienleibes zurückzuführen. Dieselbe Giftwirkung zeigen die mit stark verdünnter Essigsäure gewonnenen Extrakte der Kokkenleiber.

Durch subkutane Injektion kleiner Mengen der Kulturfiltrate läßt sich beim Menschen eine intensive hämorrhagische Entzündung an der Injektionsstelle erzeugen.

Es liegt mir die Annahme fern, daß bei einzelnen Formen der idiopathischen Purpura beim Menschen dieselben Gifte, mit denen ich experimentierte, als Ursache der Blutungen in Betracht kommen.

Die beschriebenen Versuche berechtigen jedoch zu der Vermutung, daß bei einzelnen Fällen der Purpura des Menschen ähnliche Bakteriengifte im Spiele sind.

Nachdruck verboten.

Massenerkrankungen an Fleischvergiftung durch Bac. enteritidis Gärtner im Standort Metz (April 1909).

[Aus der bakteriologischen Untersuchungsstation des XVI. Armeekorps in Metz.]

Von Stabsarzt Dr. **Friedrichs** und Oberarzt Dr. **Gardiewski.**

Ende April d. J. traten unter den Truppenteilen des Standortes Metz plötzlich, ohne daß Anzeichen einer längeren Inkubation vorhanden waren, gehäufte Fälle von akutem fieberhaften Darmkatarrh auf, welche unter dem Bilde einer Vergiftung verliefen. Es wurden geschlossene Truppenteile, welche räumlich sehr weit auseinander untergebracht waren, befallen, während unter den meisten nicht durch Massenerkrankungen in Mitleidenschaft gezogenen Regimentern nur vereinzelte Fälle bekannt wurden. Von dem II. Bataillon des Königlich Sächsischen Fußartillerieregiments No. 12 erkrankten vom 21. bis 22. April, vereinzelte noch am 23. April, 139 Mann, vom 22. bis 23. April 20 Mann einer detachiert liegenden Kompagnie des Infanterieregiments No. 67 und 44 Mann des Korpsbekleidungsamtes, vom 24. bis 26., vereinzelt noch am 27. April, 44 Mann des III. Bataillons Infanterieregiments No. 130, zusammen 247 Mann.

Die Krankheit verlief bei sämtlichen Befallenen ziemlich gleichmäßig. Sie begann bei einzelnen unmittelbar nach dem Genuß der betreffenden Speisen, bei den meisten erst 12 bis 24 Stunden später mit Uebelsein, Kopfschmerzen, heftigen kolikartigen Leibschmerzen, starken Durchfällen, meist häufigem Erbrechen. Bei sehr vielen bestanden Schwindel, allgemeines Schwächegefühl, Schmerzen in den Gliedern und Gelenken. 143 Mann wurden in die Lazarette überführt, 104 Mann blieben in Revierbehandlung. Der in den Lazaretten beobachtete Krankheitsverlauf war durchweg folgender: Die meist das Bild von Schwerkranken bietenden Leute fieberten durchschnittlich zwischen 39 und 40°, einzelne hatten bis 40,3° Fieber, der Puls war stark beschleunigt, der Leib sehr gespannt und druckempfindlich; der Zustand veränderte sich durchschnittlich am 3. Tage unter dem Bilde einer Krisis, bei einzelnen stellte sich am 5. und 6. Tage ein kurzer erneuter Fieberanstieg ein. Delirien und Krämpfe traten nur vereinzelt auf, bei 14 Proz. der Kranken wurde Herpes labialis, bei 4,2 Proz. teilweise sehr starke Albuminurie beobachtet, ein Mann hatte 19 Tage lang Hämaturie, bei verschiedenen wurde starke Heiserkeit bemerkt. Todesfälle kamen nicht vor, sämtliche Leute konnten dienstfähig entlassen werden; die durchschnittliche Behandlungsdauer betrug 7 Tage. Die günstigen Erfolge sind wohl in erster Linie dem Umstande zuzumessen, daß energische ärztliche Hilfe sofort zur Hand war; Calomel in großen Dosen sowie Magenspülungen ergaben vorzügliche Resultate.

Der Verdacht einer gemeinsamen Ursache war sofort rege; die angestellten Ermittelungen erstreckten sich zunächst auf die genossenen Lebensmittel. Von seiten der Leute des Korpsbekleidungsamtes und des Infanterieregiments No. 67 wurde fast einstimmig der aus der Garnisonschlächterei bezogene und am 22. April als Mittagsmahlzeit verabreichte Schwartenmagen (Preßkopf) angeschuldigt. Während die ersteren an der

Qualität nichts auszusetzen hatten, gaben die Leute der befallenen Kompagnie Infanterieregiments No. 67 an, die Wurst sei schlecht gewesen, habe Löcher enthalten, so daß die meisten sie wegwarfen und auch nicht erkrankten. Damit war immerhin ein wichtiger Fingerzeig gegeben. Dagegen gingen die Aussagen bei dem zuerst befallenen Truppenteile, Fußartillerieregiments No. 12, sehr weit auseinander; von vielen wurden die Erkrankungen auf den Genuß von Erbsenkonserven zurückgeführt. Es ergab sich, daß dieser Truppenteil am 21. und 22. frisches Schweinefleisch als Mittagskost aus der Garnisonschlächterei bezogen hatte, ebenso das zuletzt befallene III. Bataillon Infanterieregiments No. 130 am 25. April. Auch hier waren die Ansichten über die Qualität des Essens äußerst verschieden; was der eine als vorzüglich bezeichnete, war nach Aussage eines anderen schlecht. Von den in Frage kommenden Lebensmitteln konnte am 24. April nur noch ein Stück Schwartenmagen in Untersuchung genommen werden, das von der Mittagsmahlzeit am 22. April herrührte und von einem Oekonomiehandwerker des Bekleidungsamtes in seinem Spinde aufgehoben worden war, sämtliche übrigen Speisenreste waren nach Vorschrift in die zur Abfuhr bestimmten Behälter entleert worden, nur vom Fußartillerieregiment No. 12 kam ein mariniertes Fischkotelett und Erbsenkonserven von der Mittagsmahlzeit am 20. April und der Abendsuppe am 21. April herrührend, Wurstwaren und Gewürze aus der Kantine, sowie verschiedene Trinkwasserproben zur Untersuchung. Abgesehen vom Schwartenmagen konnten, wie vorausbemerkt sei, in keinem dieser Untersuchungsobjekte Krankheitserreger nachgewiesen werden.

Untersuchung des Schwartenmagens.

Das zur Untersuchung eingelieferte Stück Schwartenmagen war seinem Alter und der Aufbewahrung entsprechend (im Spind eines Soldaten) verdorben und übelriechend. Auf dem Durchschnitt zeigte es im Innern einen grauen, feuchtglänzenden Farbenton, der sich von den Randpartieen ziemlich scharf abhob. Man gewann den Eindruck, daß die Siedehitze nicht durch und durch eingedrungen war, sondern nur so weit eingewirkt hatte, wie es die dunkler erscheinende Randzone anzeigte. Aus verschieden weit vom Rande abliegenden Stellen wurden mit ausgekochten Instrumenten Fleisch- und Fettstückchen entnommen und hiermit Bouillonröhrchen beschickt, die nach 24 Stunden weiterverarbeitet wurden. Gleichzeitig wurden Aussaaten auf Lackmus-Milchzuckeragar angelegt. Die Untersuchung der Deckglasausstriche, die aus dem Gewebesaft des Stückes angefertigt waren, ergab eine sehr reichliche Bakterienflora, bestehend aus Kokken und Bacillen, aber keinen irgendwie charakteristischen Befund.

Die Bouillonröhrchen waren nach 24-stündigem Verweilen im 37°-Schrank stark getrübt und wiesen an der Oberfläche ein feines Häutchen auf. Im hängenden Tropfen sah man lebhaft bewegliche, schlanke Stäbchen, die gramnegativ waren, sich dagegen mit Anilinfarben gut färben ließen. Aus verschiedenen Tiefen wurden von den Bouillonröhrchen Proben entnommen und diese auf Lackmus-Milchzuckeragar ausgestrichen. Nach 24-stündigem Aufenthalt dieser Platten im Brutschrank waren nur Kolonieen des Bact. coli nachweisbar. Bessere Resultate ergab die Untersuchung der direkt mit Teilen des Schwartenmagens beschickten Platten. Auch diese waren nach 24 Stunden überreich mit Bact. coli-Kolonieen besät und stark gerötet. Neben ver-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

einzelten Proteus-Kolonieen fanden sich jedoch außerdem ca. 15—20 blaue Kolonieen auf jeder Platte, die das Aussehen von Paratyphuskolonieen hatten. Orientierende Agglutinationsprüfungen dieser verdächtigten Kolonieen mit Paratyphusserum (1:100) ergaben keinen positiven Ausfall. Gleichwohl wurden aus ihnen Agarreinkulturen angelegt, da es sich um einen Paratyphusstamm handeln konnte, der in seiner Agglutinabilität gelitten hatte. Die Kolonieen selbst bestanden aus lebhaft beweglichen kurzen Stäbchen, die nach Gram nicht färbbar waren.

Da diese Kolonieen sehr verdächtig aussahen und neben Coli- und vereinzelten Proteus-Kolonieen die einzigen andersartigen Bakterien waren, wurden mit dem Blutserum von einem Kranken, der am höchsten gefiebert hatte und am schwersten erkrankt war, Agglutinationsproben angesetzt, die bis zu einer Verdünnung von 1:400 positiv ausfielen. Es bestand somit immerhin die Wahrscheinlichkeit, daß der gefundene Bacillus mit den Erkrankungen in Zusammenhang zu bringen sei. Tiere wurden mit frischen Aufschwemmungen von Partikeln aus dem Schwartenmagen nicht geimpft, da sie sicher durch die in Menge eingeführten Coli-Bakterien zugrunde gegangen wären. Mäuse, die mit dem verdächtigen Schwartenmagen gefüttert wurden, blieben gesund.

Untersuchung der Stühle der Kranken und des Krankenserums.

Die Ausstriche auf Lackmus-Milchzuckeragar zeigten auffallend wenig Coli-Kolonieen. Dieser Befund ist vielleicht darauf zurückzuführen, daß die Erkrankten sofort mit Calomel behandelt worden waren. Ueberwiegend waren blaue Kolonieen gewachsen — Alcaligenes-Kolonieen — und solche, die das Aussehen von Paratyphuskolonieen hatten. Agglutinationsversuche mit Paratyphusserum ergaben auch hier keinen positiven Ausfall. Gleichwohl wurde auch bei diesem Befund nicht der Gedanke fallen gelassen, es handele sich möglicherweise doch um eine Paratyphusinfektion, und die Agglutinabilität habe nur durch die Arzneibehandlung gelitten. Das oben angeführte Krankenserum wurde auch zur Untersuchung der auf den Stuhlplatten gewachsenen verdächtigen Kolonieen in einer Verdünnung 1:100 verwandt. Aus 14 verschiedenen Stühlen unter 47 untersuchten gelang es, den gleichen Bacillus, d. h. den dem Aussehen und Wachstum und dem Verhalten zu dem Krankenserum nach gleichen Bacillus, zu isolieren. Im Urin wurden keine verdächtigen Bakterien gefunden.

Diese 14 Stämme und der aus dem Schwartenmagen isolierte Stamm wurden zwecks näherer Differenzierung auf die verschiedenen in Betracht kommenden Nährböden übertragen. Sie verhielten sich ganz übereinstimmend mit dem vorhandenen Laboratoriumsstamme Bac. enteritidis Gärtner.

1) Auf Gelatine wuchsen sie üppig, hatten ein etwas körniges Aussehen, boten gewisse Aehnlichkeit mit Bact. coli.

2) Auf Agar wuchsen sie kräftig, sahen etwas opaleszierend aus, waren jedoch sonst wenig charakteristisch.

3) Milch brachten sie nicht zur Gerinnung, nach 6 Tagen nahm die Milch einen gelblichen Farbenton an und wurde durchscheinend.

4) Traubenzuckerbouillon wurde vergoren.

5) Milchzucker wurde vergoren.

6) Lackmusmolke wurde stark getrübt, nahm nach 24 Stunden eine

leicht rötliche Farbe an, die jedoch nach 3 Tagen in ein reines intensives Blau umschlug.

7) Neutralrotagar nach Rothberger wurde gelb, fluoreszierend und durch Gasbildung auseinandergerissen.

8) Auf Lackmus-Milchzuckeragar nach Drygalski-Conradi waren sie nach 24 Stunden blau durchsichtig, nach 48 Stunden nahmen sie einen grau-weißlichen Schein an und zeigten im Zentrum eine kleine Delle.

9) Bouillon wurde gleichmäßig getrübt, und wies nach 48 Stunden Häutchenbildung auf.

10) In Peptonwasser bildeten sie kein Indol.

Auf Grund dieses Verhaltens der Bakterien zu den verschiedenen Nährböden schied die Coli- und Typhusgruppe aus und die Merkmale sprachen dafür, daß die Stämme der Gruppe des Bac. enteritidis Gärtner zuzurechnen waren.

Die Agglutinationsversuche wurden mit dem Blutserum von 31 Kranken ausgeführt. Von diesen Seris wirkten agglutinierend

gegenüber	bis zur Verdünnung von:				
	1:25	1:100	1:200	1:400	1:800
Typhus, Laboratoriumsstamm	0	0	0	0	0
Paratyphus B-Stamm	1	0	0	0	0
Bac. enteritidis Gärtner-Stamm	17	3	1	0	0
Stamm Eichhorn	10	3	3	3	1

Von den 31 Krankenseris wirkten also 21 agglutinierend auf den Laboratoriumsstamm Bac. enteritidis Gärtner, 20 auf den Stamm Eichhorn, und zwar auf letzterem mehrfach in höheren Verdünnungen, als auf den Laboratoriumsstamm des Bac. enteritidis Gärtner. Drei andere gleichfalls frisch gewonnene Stämme, darunter der aus dem Schwartenmagen gezüchtete, wurden durch die Krankensera etwa ebenso hoch beeinflußt. Sera von Gesunden (25 Untersuchungen) agglutinierten die Stämme nicht, selbst nicht in einer Verdünnung von 1:10. Leider konnten keine Versuche darüber angestellt werden, wie sich die isolierten Stämme zu einem Immunserum von Bac. enteritidis Gärtner verhielten, da ein solches uns nicht sogleich zur Verfügung stand.

Tierversuche, die mit den in Reinkultur gewonnenen Stämmen angestellt wurden, hatten folgendes Ergebnis: $^1/_4$ Oese Mäusen subkutan injiziert, tötete diese unter den Zeichen allgemeiner Sepsis, blutigen Durchfällen und Lähmungserscheinungen an den hinteren Extremitäten in 10—24 Stunden. Die Bacillen konnten aus dem Herzblut wieder gezüchtet werden. An den Bauchorganen ließen sich starke Blähung der Darmschlingen, vereinzelte Blutextravasate unter dem Peritoneum und Milzvergrößerung nachweisen. Auch aus der freien Bauchhöhle konnten die Bacillen wieder isoliert werden. Mäuse, die mit in Reinkulturen eingeweichtem Brot gefüttert wurden, erkrankten an Gastroenteritis, gingen jedoch nicht zugrunde, wohl aber starben sie nach 24 resp. 48 Stunden, wenn ihnen 0,5 resp. 0,05 ccm keimfreies Filtrat einer 24-stündigen Bouillonkultur injiziert wurde; eine Dosis von 0,005 ccm war nicht mehr tödlich.

Bemerkenswert ist, daß der Titer des Krankenserums sehr schnell zurückging, so sank z. B. der Titer desjenigen Serums, welches am 6. Krankheitstage bis zur Verdünnung von 1:800 agglutinierend wirkte, 10 Tage nach der Entfieberung auf 1:150. Auch bei den anderen Kranken konnte dasselbe Verhalten beobachtet werden. So ist möglicherweise auch die Tatsache zu erklären, daß bei 10 von 31 zur Untersuchung gekommenen Krankenseris keine Agglutination festzustellen war.

Nach dem Ergebnis sämtlicher Untersuchungen und Nachforschungen war es sicher geworden, daß die gemeinsame Infektionsquelle durch das aus der Garnisonschlächterei bezogene Schweinefleisch (2 Truppenteile) bezw. durch den aus letzterem gefertigten Schwartenmagen (2 Truppenteile) gebildet war, zumal eine gemeinsame andere Entstehungsursache nach den örtlichen Verhältnissen auszuschließen war. Hierzu kamen Einzelheiten, welche den Verdacht zur Gewißheit erhoben, daß das Schweinefleisch der Vermittler der Infektion gewesen ist. So waren bei den einzelnen Truppenteilen einige Leute krank geworden, die nur an dem betreffenden Tage ausnahmsweise, weil sie sonst anderweitig beköstigt wurden, an dem gemeinsamen Essen teilgenommen hatten, und von dem Essen nichts als Schweinefleisch bezw. Schwartenmagen zu sich genommen hatten. Es wurden nunmehr Nachforschungen in der Garnisonschlächterei angestellt. In ihr herrscht ein in bezug auf Reinlichkeit, sorgfältige Verarbeitung des Fleisches, Aufbewahrung desselben, mustergültiger Betrieb, in welchem namentlich auch auf Sauberkeit des Personals strenge gehalten wird, und in welchem auch ärztliche, unangemeldete Besichtigungen niemals Grund zu Tadel gegeben hatten. Von dem Personal selbst, welches monatlich wechselt und aus den verschiedenen Regimentern zusammengestellt wird, war nach eigener Aussage der Leute vorher keiner irgendwie krank oder unwohl gewesen. Von dem ganzen Personal der Garnisonschlächterei wurde Blut entnommen und das Serum auf Agglutinine gegen Typhus bezw. Paratyphus B, **Bac. enteritidis Gärtner** und die bei den Stuhluntersuchungen der Erkrankten gefundenen neuen Stämme untersucht, sämtlich ebenso wie die Untersuchung von Faeces dieser Leute mit negativem Erfolge, so daß wohl eine Infektion durch Uebertragung der Bacillen von menschlichen Quellen auf das Fleisch als ausgeschlossen gelten konnte. Das für die Garnisonschlächterei bestimmte Schlachtvieh wird von Händlern aus verschiedenen Gegenden angekauft und im städtischen Schlachthaus nach den dortigen strengen Vorschriften lebend untersucht. Ebenso erfolgt eine Besichtigung des geschlachteten Tieres durch einen Tierarzt als auch eine Untersuchung einzelner Teile. Es war während der ganzen in Betracht kommenden Zeit kein Tier aufgefallen oder beanstandet worden. Als der Verdacht auf Infektion durch Schweinefleisch ausgesprochen war, wurde er von der Garnisonschlächterei mit dem Hinweis auf die mehrfache Untersuchung der Tiere als „vollständig ausgeschlossen“ zurückgewiesen.

Nach den Veröffentlichungen der letzten Jahre und den Zusammenstellungen von van Ermengheem[1]) stellt sich die hier geschilderte Epidemie als eine der Zahl nach größten unter denjenigen dar, welche auf Fleischvergiftung durch Bac. enteritidis zurückgeführt worden sind. Denn trotz der in der Allgemeinen Fleischerzeitung No. 98 vom 28. April 1909 nach Ausbruch der Epidemie erschienenen wenig liebevollen Kritik: „In Metz sind 160 Soldaten des 12. Sächsischen Fußartillerieregiments erkrankt, und zwar, wie wir ermittelt haben, wahrscheinlich an Typhus. Durch die Zeitungen läuft aber wieder die Meldung, daß der Genuß verdorbener Wurst die Ursache der Er-

---

1) Kolle-Wassermann, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Bd. 2.

krankungen ist. Dieser Unfug, bei Erkrankungen, deren Ursache unbekannt ist, Fleisch und Fleischwaren zum Sündenbock zu machen, scheint unausrottbar zu sein", muß daran festgehalten werden, daß die Massenerkrankungen auf den Genuß von Schweinefleisch zurückgeführt werden müssen. Wenn auch der Gärtnersche Bacillus gerade im Schweinefleisch bisher weniger oft gefunden worden ist und seine beim Menschen Krankheit erregenden Eigenschaften nicht so oft durch Genuß von Schweinefleisch als durch den von Kalb- und Rindfleisch hervorgetreten sind, steht die jetzige durch Schweinefleisch verursachte Epidemie nicht vereinzelt da. In letzter Zeit sind durch Riemer[1]) Massenerkrankungen in Rostock (63 Fälle) auf den Genuß von Leberwurst mit Sicherheit zurückgeführt worden. Nach den vorliegenden Verhältnissen kommen in der Metzer Garnisonschlächterei Notschlachtungen nicht in Betracht. Es ist wohl sicher anzunehmen, daß deutlich erkrankte Tiere nicht zur Schlachtung gekommen sind. Andererseits können solche Tiere verarbeitet worden sein, welche äußerlich wohlgenährt und gesund aussahen, aber doch an leichtem Darmkatarrh litten, welcher bei der Schlachtung übersehen worden ist, oder aber kurz vorher an Darmkatarrh gelitten haben. Holst[2]) hat eine Epidemie beschrieben, welche durch den Genuß von Fleisch eines 14 Tage vor der Schlachtung an Enteritis erkrankt gewesenen Kalbes entstanden ist. An und für sich könnte ja auch die Möglichkeit zugegeben werden, daß das Fleisch keimfrei gewesen und nachträglich verunreinigt und infiziert worden ist. Aber auch dies könnte nur vor der Ausgabe in der Garnisonschlächterei und nicht bei der Truppe geschehen sein, da die Erkrankungen fast gleichzeitig an verschiedenen Stellen ausbrachen, und nur nach Genuß von Schweinefleisch und Wurst und nicht nach dem von anderem, gleichzeitig ausgegebenem Fleisch. Auch die vorgenommenen negativ ausgefallenen Untersuchungen des Personals auf Agglutinine sprechen gegen eine nachträgliche Infektion durch das Personal, obgleich die Möglichkeit, daß es wie gesunde Typhusbacillenträger auch gesunde Träger von Enteritisbacillen geben könnte, nicht auszuschließen ist. Ferner mußte daran gedacht werden, daß die zur Wurstfabrikation benutzten Därme, welche von einer Metzer Firma geliefert werden, von kranken Tieren stammten und etwa nicht genügend gereinigt waren, jedoch wäre hieraus nur die Infektion der verhältnismäßig kleinen Zahl (64) von Leuten zu erklären, die Wurst genossen haben.

Ob durch den Genuß von Fleisch völlig gesunder Tiere eine Infektion mit Bac. enteritidis erfolgen kann, erscheint trotz der positiven Fütterungsversuche von Mühlens, Dahm und Fürst[3]) zweifelhaft, solange nicht, wie für Paratyphus B ja feststeht, durch direkte Züchtung aus dem Fleische gesunder Tiere die Bacillen nachgewiesen sind. Auch ein häufigeres Vorkommen der Enteritisbacillen als harmlose Saprophyten im tierischen Darm, welche dann auf das ausgeschlachtete Fleisch durch die Hände der Schlächter übertragen und durch günstige Bedingungen, wie längere Aufbewahrung bei warmer Witterung, zur starken Vermehrung unter Virulenzsteigerung gelangen könnten, ist wohl nicht anzunehmen, da sonst Fleischvergiftungen durch Enteritisbacillen weit häufiger beobachtet werden müßten.

---

1) Riemer, Ueber eine nach Genuß von Leberwurst beobachtete Fleischvergiftung und deren Erreger. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 27. Heft 2.)

2) Holst zitiert nach van Ermengheim, Kolle-Wassermann. Bd. 2.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 27. 1908. Heft 1.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Vorbeugungsmaßregeln gegen Fleischvergiftungen durch Enteritisbacillen dürften schwer zu treffen sein; dringend anzuraten ist aber jedenfalls ein recht genaues Achten auf Zeichen von Darmerkrankungen beim Schlachtvieh; bei verdächtigen Zeichen ließe sich leicht und ohne großen Zeitverlust eine Agglutinationsprüfung des Muskelsaftes gegen Enteritisstämme vornehmen, wie sie de Nobele[1]) vorgeschlagen hat, oder ein Kulturverfahren mit Fleischproben versuchen.

Nachdruck verboten.

Ein neuer parasitärer Hyphomycet des Menschen.

Von **J. Siegel**, Berlin.

Mit 2 Figuren im Text und 2 Tafeln.

Während das Vorkommen von Bakterien, Hefen und Soorpilzen in dem menschlichen Urin häufig beobachtet wird, fand ich in der Literatur keine Angabe über echte Hyphomyceten des Harns. Es dürfte daher wohl die folgende Beschreibung eines klinisch längere Zeit beobachteten, im menschlichen Urin gefundenen, eigenartigen Hyphomyceten Interesse erwecken.

Der Kranke, in dessen mikroskopisch im übrigen keimfreien Urin monatelang das Vorkommen von Pilzfäden beobachtet werden konnte, stand in Behandlung des Herrn Dr. Lommen in Arnheim und später auch des Herrn San.-Rats Dr. Wossidlo in Berlin, die mir die mykologische Untersuchung des Urins übertrugen. Von Herrn Dr. Wossidlo ist bereits eine kasuistische Schilderung des Krankheitsfalles in einem Vortrage auf dem Urologenkongreß zu Berlin im April 1909 gegeben worden[2]).

Die im Urin nachweisbaren Hyphen zeigten nichts Charakteristisches; zu einer genaueren Bestimmung des Pilzes war eine Reinkultur notwendig. Sehr viele Züchtungsversuche scheiterten zunächst an der Schwierigkeit, schnell wachsende verunreinigende Bakterien der Harnwege auszuschließen, die alles überwucherten. Schließlich gelang es doch, eine Reinkultur eines Pilzes zu erhalten, und zwar auf folgende Weise:

Nach Ausspülung der Blase, der hinteren und vorderen Harnröhre mit steriler Borlösung wurde von dem darauf gelassenen Harn auf eine Reihe Röhren mit Agar, Gelatine, Bouillon, die zum Teil mit Fruchtzucker oder Fruchtsaft versetzt waren, je $^1/_2$ ccm Harn gebracht. Der Rest dieses Urins, etwa 100 ccm, wurde in einer sterilen Flasche stehen gelassen.

Nach 3 Tagen fanden sich in sämtlichen Röhren, mit Ausnahme der mit Fruchtsaft und Zucker versetzten, sowie im Urin, eine soeben mit der Lupe nachweisbare Mycelbildung.

Diese positiv anwachsenden Röhren sowie der Rest des Urins waren bei Zimmertemperatur, etwa bei 20° C, aufgehoben worden, während ein anderer Teil der Röhren derselben Art, im Brutschrank bei 37° C untergebracht, vollkommen steril blieb. Im Verlaufe der nächsten 8 Tage entwickelten sich zwischen dem Mycel kleine punktförmige Gebilde, die bei genauerer mikroskopischer Betrachtung sich als Fruchtformen, und zwar als Pyknidenfrüchte erwiesen.

---

[1]) de Nobele, Ann. de la méd. Gand. 2 mém. 1900.

[2]) Zeitschr. f. Urologie. 1909. I. Beiheft. p. 157 ff. Hier ist auch angegeben, daß Lommen am 20. Dez. 1908 in der Niederl. dermatol. Ges. zu Amsterdam über denselben Fall sprach.

Unter Pykniden versteht man nach De Bary verhältnismäßig selten beobachtete Gonidien bildende Behälter; die in ihnen gebildeten Gonidien nennt man Pyknosporen oder Pyknogonidien. Die Pykniden werden je nach den Species entweder einzeln von dem fädigen Mycel gebildet oder sind zusammengesetzten Trägern aufgesetzt. Ihre Entwickelung findet entweder durch Wachstum eines interkalaren Mycelfadenstückes unter unregelmäßiger allseitswendiger successiver Teilung und schließlicher Differenzierung seiner Zellen statt, wobei Zweige der benachbarten Hyphen gewöhnlich den so entstandenen Körper umspinnen und sich hiermit an dem Aufbau seiner Wand beteiligen. Andere Pyknidenarten entstehen nur durch Vereinigung und Verflechtung von Hyphenzweigen. Im erwachsenen Zustande können die Formen differenter Entstehungsweise durchaus ähnlichen Bau besitzen. Der Innenraum der Pykniden ist je nach der Species teils einfach, teils durch Vorsprünge der Wand in meist unregelmäßige enge, nach der Mündung zu kommunizierende Höhlungen geteilt.

Zur Veranschaulichung dieser Verhältnisse mögen zwei schematische Abbildungen aus De Barys Lehrbuch[1]) reproduziert werden. Fig. 1 zeigt junge Entwickelungszustände von Pykniden (Pleospora Alternariae Gibelli) in *a* Beginn der Anschwellung und lebhafter Querteilung des zur Pyknide werdenden interkalaren Hyphenstückes, welchem sich Zweige derselben und einer benachbarten Hyphe anlegen; in *b* liegt ein älterer Entwickelungszustand vor. In Fig. 2 sieht man eine fast reife Pyknide (Cicinnobolus Cesatii) im optischen Längsschnitt, man sieht die aus der einschichtigen Wand ins Innere sprossenden

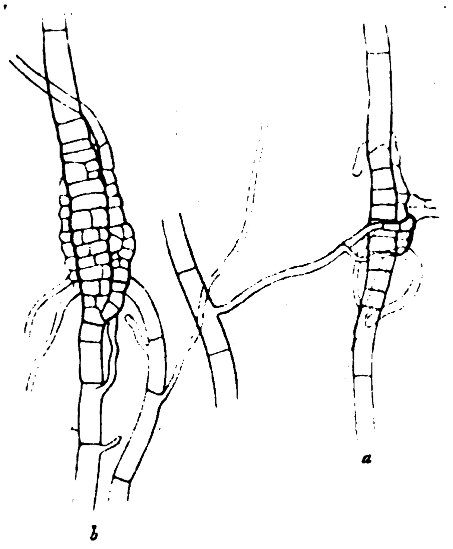


Fig. 1.

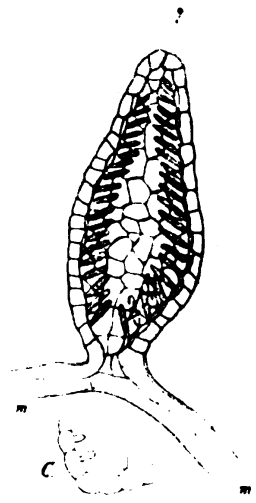


Fig. 2.

---

[1]) De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bakterien. Leipzig 1884.

jungen Sporen; in *C* liegt vor ein Querschnitt durch die Wand einer reifen Pyknide mit drei vorsprossenden Sporenanfängen.

Der uns beschäftigende Pilz, den ich **Pycnosporium Lommeni** nennen will, entwickelt sich folgendermaßen: Wird eine Agarplatte mit einer sporen- oder myceltragenden Impfnadel berührt, so sieht man nach 5 Tagen eine sich kreisförmig gleichmäßig von dem Impfpunkte an ausbreitende weiße Mycelwucherung von der Größe, wie die Fig. 3 sie zeigt. Bei weiterem Wachstum entdeckt man zwischen den Pilzfäden kleine punktförmige, gelbbräunliche Fruchtformen, die Pykniden, die, wie das aus demselben Präparat wie Fig. 3 stammende Sektor Fig. 4 zeigt, in der Mitte eng zusammenliegend und reif, dagegen bei weiterem Heranrücken an die Peripherie des Pilzrasens entsprechend kleiner und noch in der Entwickelung befindlich.

Bei stärkerer Vergrößerung erkennt man, daß die jüngeren unreifen Formen sowohl durch interkalares Wachstum eines Mycelfadenstückes entstehen, wobei von benachbarten Hyphen kleine Zweige zur Frucht hinüberranken und sich durch Verflechtung und Verfilzung an der Entwickelung beteiligen. Abbildung 5 und 6. Die reifen Pykniden (Fig. 7) zeigen auf dem Schnitt (Fig. 8) eine Innenhöhle, die mit losen Gonidien gefüllt ist, während sich vom Rande aus neue Sporen abschnüren. Die Form und Größe der Sporen ergibt sich aus der Figur 9.

In flüssigen Nährböden, z. B. Bouillon oder Urin, kommt es nicht zur Bildung von Pykniden, beim Altern der Kultur, d. h. nach einigen Wochen, findet man den größten Teil der Hyphen in Gemmen (De Bary) oder Chlamydosporen (Brefeld) verwandelt (Fig. 10).

Im Stich kommt es zum anaëroben, allerdings etwas kümmerlichen Auswachsen von Mycelien; Früchte und Sporen beobachtete ich hier nicht. Alte Gelatinekulturen werden langsam verflüssigt. Die geschlechtliche Fruchtform habe ich bisher nicht auffinden können, obgleich ich den Pilz nun bereits 9 Monate auf den verschiedensten Nährböden fortzüchtete.

Als eine eigentümliche Anpassungserscheinung betrachte ich das schnelle und ausgiebige Wachstum des Pilzes auf zuckerfreiem eiweißhaltigen Nährboden und das Nichtwachsen auf Fruchtsäften. Andererseits ist die Anpassung an den menschlichen Körper nicht so weit gediehen, daß der Pilz bei Bruttemperatur auf künstlichen Nährböden wüchse.

Einige Kaninchen, denen ich entweder sporenhaltiges oder sporenfreies Material in die Ohrvene spritzte, zeigten keine Krankheitserscheinungen, auch konnte man in den Organen oder im Blut derselben keine Pilzherde entdecken. Tierpathogen scheint das Pycnosporium also nicht zu sein.

Der Urologe Dr. Lommen in Arnheim, der den Pilz im Urin entdeckte, glaubte, den Sitz der Pilzwucherung in dem linken Samenbläschen des Kranken festsetzen zu können, von wo aus die Mycelien in den Harn gelangen. Besondere Krankheitserscheinungen hat der Pilz bisher nicht hervorgerufen. Ob wir es hier mit einem ganz singulären Krankheitsfall zu tun haben, oder ob eine solche Infektion vielleicht doch häufiger vorkommt, läßt sich zunächst nicht sagen. Die Untersuchung des Harnes auf Pilzfädchen wird im allgemeinen wohl nur sehr selten vorgenommen, und die Reinzüchtung des Pilzes macht, wie ich oben schon erwähnte, sehr große Schwierigkeiten. Vielleicht aber gelingt es, nachdem nunmehr die Aufmerksamkeit darauf gelenkt ist, in Zukunft weitere gleiche Infektionen zu finden.

Zum Schluß möchte ich noch bemerken, daß der Mykologe Prof. Dr. **Reinhardt** in Berlin meine Präparate gesehen hat und die Fruchtformen ebenfalls als Pykniden diagnostizierte.

Zusammenfassung.

1) Der beschriebene Hyphomycet (**Pycnosporium Lommeni** n. sp.) wurde längere Zeit regelmäßig im Urin eines Menschen gesehen.

2) Die Reinzüchtung gelang auf verschiedenen eiweißhaltigen zuckerfreien Nährböden bei Zimmertemperatur.

3) Der Pilz bildet auf trockenem Nährboden eigenartige Fruchtformen, sogenannte Pykniden; in flüssigem Nährboden Gemmen (Chlamydosporen).

Tafelerklärung.

Fig. 3. Pilzrasen auf einer Agarplatte, 8 Tage alt. Vergr. 1.

Fig. 4. Ein Sektor desselben Rasens; man sieht in der Nähe des Zentrums reife Pykniden, weiter nach der Peripherie jüngere Fruchtformen. Vergr. 10.

Fig. 5 und Fig. 6. In Bildung begriffene Fruchtformen, interkalare Anschwellung einzelner Hyphen und Verschlingung mit benachbarten Hyphenzweigen. Lebend photographiert. Vergr. 450.

Fig. 7. Reife Pykniden im Ausstrich, gefärbt mit **Unna-Pappenheims** Karbolmethylgrün-Pyronin. Vergr. 75.

Fig. 8. Eine reife Pyknide mit Formalin gehärtet, im Schnitt, gefärbt nach **Unna-Pappenheim**. Vergr. 450.

Fig. 9. Pyknosporen (Gonidien), Ausstrich, gefärbt mit **Heidenhains** Eisenhämatoxylin. Vergr. 360.

Fig. 10. Gemmenbildung einer alten Kultur, lebend photographiert. Vergr. 450.

Nachdruck verboten.

Weitere Beobachtungen über Vaccinevirus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Königl. Universität Turin.
(Leiter: Prof. Luigi Pagliani).]

3. Note.

Von Prof. Dr. **Guido Volpino.**

Bekanntlich [siehe meine früheren Veröffentlichungen in diesem Blatt[1])] findet sich innerhalb der Epithelzellen der mit Vaccine geimpften Kaninchenhornhaut eine große Anzahl winziger Körperchen, die eigentümliche, lebhafte Bewegung aufweisen und meist zu Anhäufungen vereint sind; dieser Befund ist konstant und ausschließlich bei Vaccine anzutreffen. Meine Beobachtungen wurden weiterhin von manchen anderen Autoren bestätigt (**Casagrandi**, **Pugliese** und **Debenedetti**, **Arndt**, **Prowazek** et **De Beaurepaire**) und auch auf die Untersuchung der Variola ausgedehnt. Genannte Autoren sind weiter gleich mir der einstimmigen Ansicht, daß diese Elemente mit Hinsicht auf ihre besonderen Eigenschaften als morphologische Repräsentanten des Vaccinevirus selbst aufzufassen seien[2]).

---

[1]) Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908 und Bd. 49. 1909.

[2]) Eine andere Bestätigung konnte in neuester Zeit **Bormans**, Vorstand im Gemeindebakteriologischen Laboratorium zu Turin, durch sorgfältige Kontrollunter-

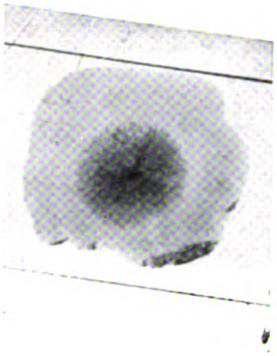


Fig. 3.

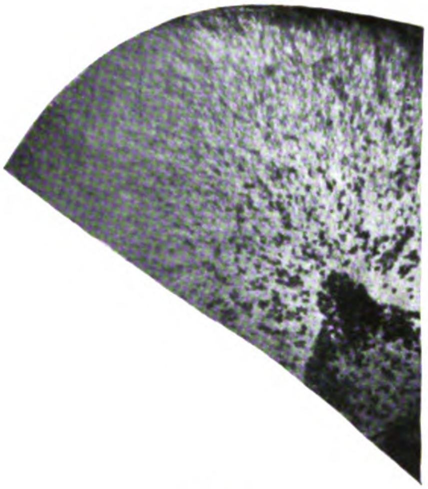


Fig. 4.

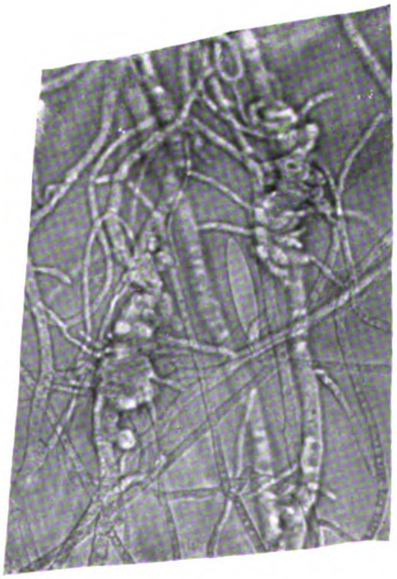


Fig. 5.

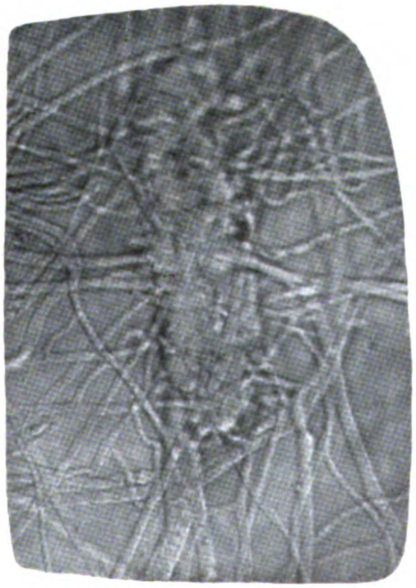


Fig. 6.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

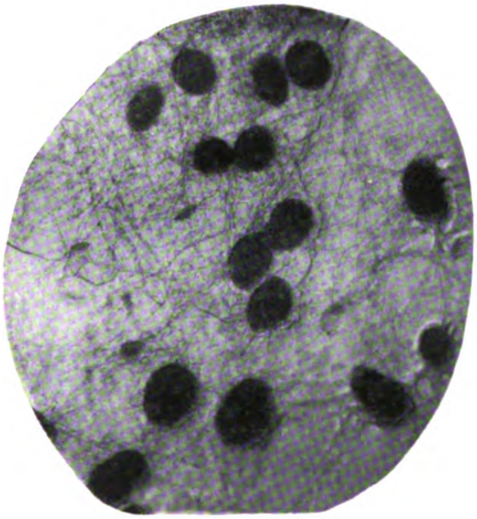


Fig. 7.

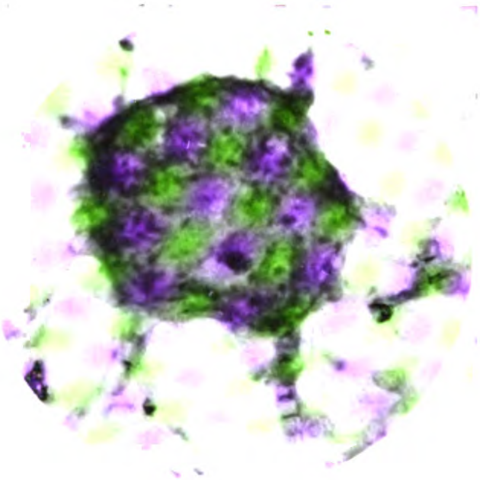


Fig. 8.

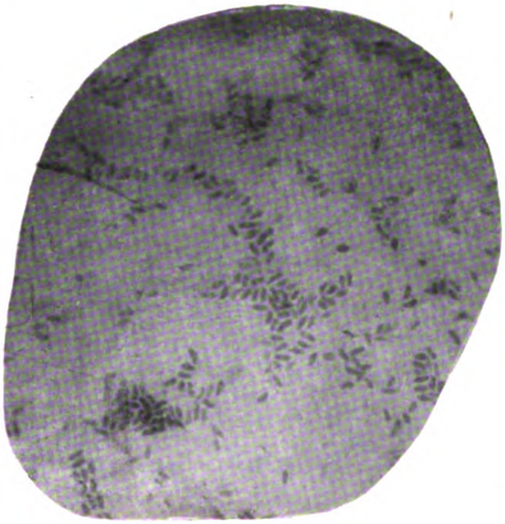


Fig. 9.

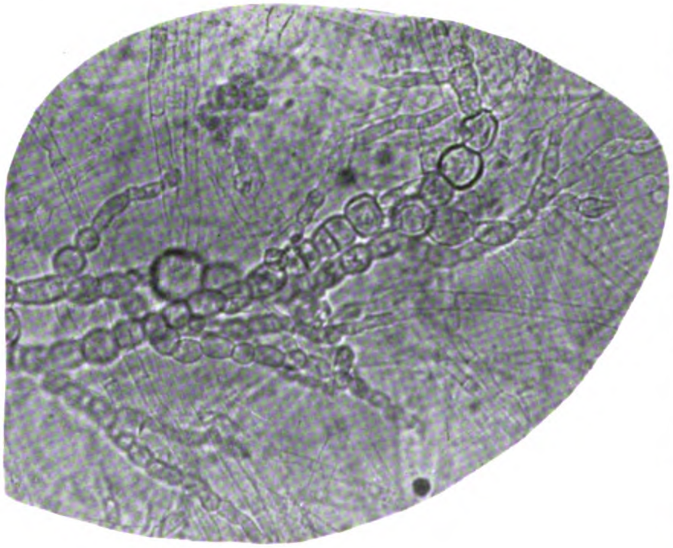


Fig. 10.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Gegenwärtige Mitteilung nun bezweckt die Bekanntmachung der von mir in letzter Zeit mit dem Vaccinevirus angestellten Züchtungsversuche.

Es sei gleich hier bemerkt, daß mir eine wirkliche Züchtung des Virus in Kulturröhrchen nicht gelungen ist, obgleich ich viele Male die Versuchsbedingungen abgeändert und mancherlei Kunstgriffe angewandt habe. Dagegen habe ich einige Ergebnisse mit der mehrere Tage hindurch fortgesetzten Beobachtung frischer Präparate in vitro erhalten; die Präparate bestanden aus Epithelfragmenten infizierter Corneae und isolierten Zellen in physiologischer Kochsalzlösung, das Ganze in Vaselin eingebettet.

In genannten Präparaten läßt sich die charakteristische Bewegung des Virus innerhalb der Zellen während eines Zeitraums von 8—12 Tagen feststellen.

Die Bewegung erlischt nach und nach mit gleichzeitigem Auftreten von Bakterienformen in der Präparatflüssigkeit, ein Umstand, der sich auch durch sorgfältigste Sterilisierung der Schalen nicht ausschalten ließ.

Die Virulenz des Materials jedoch bleibt, wie Impfungen auf Kaninchenkorneae dartun, im Durchschnitt noch 4 oder 5 Tage im Präparat erhalten.

Interessant ist die Feststellung, daß die spezifischen Körperchen noch mehrere Tage hindurch beweglich bleiben, wenn das Gewebe infolge autolytischer Vorgänge schon tiefgehende Veränderungen aufweist, so daß seine Zellnatur beinahe nicht mehr zu erkennen ist.

Namentlich vom 4. oder 5. Tage an finden bei einer Temperatur von 20—25° C im Präparat ständige Modifikationen im Epithel statt. Zahlreiche Zellen werden durchsichtiger und kugeliger, wie wenn sie sich mit Flüssigkeit anfüllten, und geben große Kugeln nahezu flüssiger Substanz ab, die sich sogar völlig vom Zellkörper lostrennen und am Saum der Epithelfetzchen ansammeln.

Während dieser Periode läßt sich ziemlich häufig beobachten, daß viele der erwähnten beweglichen Körperchen in manchen dieser großen, von den Zellen abgestoßenen Substanztropfen eingeschlossen dort ihre Beweglichkeit behalten, obgleich sie von den Zellelementen losgetrennt sind.

In diesen Fällen, wo die Körperchen im Innern relativ sehr großer Räume beobachtet werden können, läßt sich deutlich erkennen, daß die Körperchen, wie ich schon in den früheren Artikeln dargelegt, nicht nur Pendelbewegungen, sondern auch Ortsbewegungen ausführen.

Eine weitere, noch bemerkenswertere Tatsache läßt sich ungefähr vom 4. oder 5. Tage an feststellen, nämlich das Auftreten ex novo von spezifischen beweglichen Körperchen innerhalb bislang davon freigewesener Zellelemente.

Infolge dieses Vorganges einerseits und der Zunahme der Körperchen in den von Anfang an damit ausgestatteten Zellen andererseits läßt sich um den 6. oder 7. Tag eine beträchtliche Vermehrung der Körperchen in den ursprünglich nur eine mäßige Anzahl aufweisenden Präparaten konstatieren.

---

suchungen erbringen. Dieser Verf. hat die Spezifizität beweglicher Körperchen der Vaccine bestätigt und konnte außerdem denselben Befund auch bei Horse-pox feststellen. Diese Untersuchungen wurden 1909 der medizinischen Akademie zu Turin mitgeteilt.

Die Tatsachen beweisen zunächst, daß die von mir bei Vaccine gefundenen und beschriebenen Körperchen tatsächlich autonome Elemente, daher fähig sind, lange Zeit hindurch ihre charakteristische Eigenschaft, die Beweglichkeit, unverändert zu erhalten, ungeachtet der Gewebsauflösung und sogar unabhängig von ihrem endocellulären Sitz; weiter beweisen sie noch, daß besagte Körperchen, eben weil sie autonom sind, auch einer gewissen Entwickelung in vitro fähig sind.

Zusammengehalten mit der Spezifizität des Befundes und anderen, durch frühere Forschungen ans Licht gebrachten Tatsachen (besonders habe ich da das Faktum im Auge, daß die Körperchen durch spezifisches Serum immobilisiert werden, während Normalserum so gut wie keine Wirkung besitzt), berechtigen die angeführten Tatsachen zu dem endgültigen Schluß, daß wir es tatsächlich mit für die Vaccine spezifischen Mikroorganismen und demnach mit größter Wahrscheinlichkeit auch mit dem Vaccineerreger zu tun haben.

Literatur.

1) **Volpino**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908 und Bd. 49. 1909.
2) **Casagrandi**, Bollet. Soc. Cultori delle Scienze Naturali. Cagliari 1908.
3) **Arndt**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 47. 1908.
4) **Prowazek und de Beaurepaire**, Münch. med. Wochenschr. 1909.
5) **Bormans**, Giorn. della R. Accad. Medica di Torino. 1909.
6) **Pugliese und Debenedetti**, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909.

Nachdruck verboten.

Wieder über die besondere Virulenz meines fixen Virus.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität zu Sassari.]

Erwiderung auf einige Bemerkungen von Prof. Galli-Valerio.

Von Prof. **Claudio Fermi.**

Galli-Valerio[1]) erwähnt zuerst die Bestätigung meiner Versuche[2]) mit meinem fixen Virus seitens der Pasteurschen Institute in Paris und Berlin, er sagt:

„Mes expériences démontrent que dans plusieurs cas l'inoculation sous-cutanée de virus fixe de Sassari, et très probablement se comportent d'une façon analogue les virus fixes de Messine et de Palerme, tout en déterminant chez les animaux des formes paralytiques, ne déterminent pas la rage, mais une forme fort analogue à celle qui a été observée plusieurs fois chez les personnes soumises au traitement Pasteur après morsure."

Im weiteren kommt er auf Grund eigener Versuche zu einer ähnlichen Sterblichkeitsziffer, wie ich sie erhalten und wie sie in Paris und Berlin mit einem Virus erhalten wurde; dann führt er aus, daß das

---

[1]) Galli-Valerio, B., Recherches expérimentales sur la rage des rats. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 50. 1909. Heft 3.)

[2]) Fermi, C., Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 49. 1909. Heft 4.

Nervensystem von mit Lyssazeichen infolge subkutaner Infektion verstorbenen Mäusen nicht immer virulent ist und schließt folgendermaßen:

„Il s'agit ici très probablement de formes paralytiques par intoxication, analogues à celles qu'on observe au cours du traitement antirabique après morsure."

„Il est probable que dans des virus fixes très actifs, tels que celui de Sassari, cette substance toxique soit plus active ou en plus grande quantité et son action se manifeste dans les inoculations sous cutanées à cause de la quantité plus grande de virus inoculée ($^1/_2$—$1^1/_2$ c. c.) en comparaison de celle qu'on inocule dans le cerveau (une petite goutte), et peut-être à cause du fait que cette substance toxique est plus facilement resorbée par la voie sous-cutanée que le virus rabique luimême."

Ist es nun allerdings wahr, daß das Gehirn von Mäusen, die an Tollwut nach subkutaner Infektion mit fixem Virus gestorben sind, im Gegensatz zu den Kaninchen, bei anderen Tieren zuweilen ein negatives Resultat ergibt, so kann ich die Intoxikationstheorie von Galli-Valerio doch aus folgenden Gründen nicht anerkennen!

1) Wie Galli-Valerio erfahren hat, ist das Resultat auch manchmal bei Muriden ein positives, während es sonst immer ein negatives sein sollte, zumal die Symptome in dem einen und dem anderen Falle vollkommen gleich sind.

2) Bei subkutan infizierten Kaninchen ist das Gehirn stets virulent.

3) Bevor man den Tod als durch eine Intoxikation verursacht erklärt, müßte man sich vergewissern, was noch nicht geschehen ist, daß kein Teil des Nervensystems dieser Muriden infizierend wirkt. Es wäre ja denkbar, daß das Virus sich in derartigen Fällen an anderer Stelle lokalisierte, als in der zum Versuch gewählten. Zeigt doch eine Arbeit von mir, daß diesbezüglich selbst bei subdural infizierten Tieren große Virulenzunterschiede unter den verschiedenen Gehirnteilen bestehen!

4) Außer dem Umstande, daß kein Unterschied in den Symptomen beobachtet wurde zwischen den Muriden, die ein virulentes und jenen, die ein avirulentes Gehirn zeigten, besteht die noch wichtigere Tatsache, daß die Inkubationszeit identisch ist sowohl bei den vom Lyssavirus getöteten als auch bei den nach Galli-Valerio vom vermeintlichen Toxin getöteten Muriden.

Ich denke, daß es allen unwahrscheinlich vorkommen wird, daß z. B. 100 oder 200 Muriden sämtlich mit Tollwutsymptomen am 6.—7. Tage eingehen. Ich kenne kein Toxin, das sich so verhält.

5) Die Inkubationszeit der Toxine steht im allgemeinen im Verhältnis zur Menge des eingeführten Toxins; in unserem Falle dagegen wechselt die Inkubationszeit nicht, möge man eine oder mehrere Dosen Lyssavirus verimpfen.

6) Mein fixes Virus soll nach Galli-Valerio ein Toxin enthalten, das das wirksamste der bekannten Toxine an Wirksamkeit übertrifft, nämlich das Tetanustoxin; mein fixes Virus wirkt nämlich noch in Verdünnungen von 1:60000 bis 1:70000, während man noch an der Existenz irgendeines darin enthaltenen Toxins zweifelt.

7) Mein fixes Virus tötet, wie gesagt, in einer Verdünnung von 60000 oder 70000; dagegen wird eine 10-proz. Emulsion auch in dem Maße von 50, ja von 90 ccm ertragen, wenn nur das Virus 3 Tage lang einer mäßigen Austrocknung ausgesetzt oder Karbol im Verhältnis von 1 Proz. hinzugesetzt wird.

Weder die Austrocknung noch das Karbol können aber das Toxin zerstört haben, ja es wird letzteres direkt zur Erhaltung mehrerer Toxine angewendet. Dazu kommt noch, daß das 3 Tage lang ausgetrocknete Rückenmark zwar nicht mehr bei subkutaner, wohl aber noch bei subduraler Impfung tötet.

8) Aus meinen Versuchen geht hervor, daß mein Virus gar nicht toxischer ist als jenes von anderen Instituten.

9) Ein echtes Wuttoxin ist noch nicht bewiesen worden. Auch in dem neulich erschienenen Buche über Wutkrankheit von Marie liest man p. 245 folgendes:

„La presence de la toxine rabique n'a pas encore été démontrée par la méthode expérimentale, et la plus part des accidents qui ont été attribues à cette toxine peuvent tout aussi bien relever des poissons qui entrent dans la composition chimique de la substance nerveuse normale.“

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorkommen der Lentzschen Passagewutkörperchen und ihre Spezifizität.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Turin.
(Leiter: Prof. L. Pagliani.)]

Von Dr. **Gino Pinzani,** freiwilliger Assistent.

Mit 2 Textfiguren.

Im 1. Heft des 62. Bandes (28. Dezember 1908) der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten hat Dr. Otto Lentz vom Institut für Infektionskrankheiten in Berlin eine interessante Arbeit über die spezifischen Veränderungen der Nervenzellen wutkranker Tiere veröffentlicht.

Der Autor stellt zunächst Untersuchungen über die Negrischen Körper an, besonders hinsichtlich des Verhältnisses ihrer Anzahl zu der Infektionskraft der sie enthaltenden Gewebe, hinsichtlich ihres Fehlens in Fällen sicher diagnostizierter Wut und ihres Verhaltens bei Fäulnis.

Weiterhin, zur Untersuchung der Passagewut übergehend, beschreibt Lentz, nach Hinweis auf die übrigens bereits bekannte Tatsache des spärlichen Vorkommens der Negrischen Körper bei mit genanntem Virus infizierten Kaninchen, einige Gebilde, die er im Ammonshorn dieser Tiere vorgefunden hat.

Es handelt sich um ovale, spindelförmige, selten runde Körper, deren Durchmesser $1^1/_2$—2 roten Kaninchenblutkörperchen entspricht, deren Grundsubstanz sich mit Eosin färbt und die im Innern klumpige, mit Methylenblau sich intensiv färbende Anhäufungen aufweisen.

Dieser von Lentz beschriebene und durch die der Arbeit beigegebenen farbigen Tafeln anschaulich gemachte Befund schien mir so wichtig und interessant, daß ich beschloß, die bei der Bildung und Entwickelung dieser Körperchen obwaltenden Verhältnisse, sowie deren Bedeutung einer näheren Untersuchung zu unterziehen.

Zu diesem Zweck begann ich meine Beobachtungen an dem vom Turiner Pasteurinstitut gelieferten Virus fixe.

Bei der Färbung wandte ich die von Lentz selbst in einer früheren im Centralbl. f. Bakt. Bd. 44. Heft 4 erschienenen Arbeit angegebene, auf der Verwendung von alkoholischer Eosinlösung und Loeffler-Blau 1) beruhende Methode an.

Nach diesem Verfahren habe ich Gehirnschnitte von 4 mit Virus fixe infizierten Kaninchen gefärbt. In sämtlichen Schnitten habe ich das Vorhandensein mehr oder minder zahlreicher (der Unterschied war bei den verschiedenen Gehirnen sehr bedeutend), mit den von Lentz beschriebenen völlig übereinstimmender Körperchen nachweisen können.

Der summarischen Beschreibung des genannten Autors möchte ich noch einige Einzelheiten hinzufügen.

Was die Form der Körperchen betrifft, so ist sie meist rundlich, sie kann aber auch oval oder spindelförmig sein; bisweilen sind die Körperchen auch dreieckig, so daß ihr Umriß ein wenig an die Pyramidenzellen der Rinde erinnert.

Der Durchmesser ist ziemlich konstant und beträgt etwa 7 μ. Die Grundsubstanz, die mit Eosin sich lebhafter rot färbt als das umliegende Gewebe, ist homogen. In einzelnen Körperchen (besonders wenn die Eosinfärbung schwach war) konnte ich einen intensiver rotgefärbten Begrenzungsring bemerken (Fig. 1a). Hierbei wies der auf der Innenseite glatte Ring an der Außenseite eine Anzahl gleichfalls intensiv gefärbter Erhöhungen auf, die das Bild einer Schrumpfung gaben.

Im Innern dieser Grundsubstanz haben wir Körper, die sich lebhaft blau färben, auch wenn der übrige Teil des Präparates (namentlich die Hirnzellkerne und die Gliazellkerne, die sich ähnlich, jedoch weniger intensiv färben) die Methylenblaufärbung nur schwach annimmt.

Abgesehen von der intensiven Färbung, unterscheiden sich diese Innenkörper von ähnlichen, eventuell damit zu verwechselnden Gebilden (hauptsächlich von den Gliazellkernen) noch durch ihre ausnahmslos kugelige Form und den vollständigen Mangel jeglicher Innenstruktur.

Der Umfang dieser blauen Innenkörper kann in sehr weiten Grenzen sich bewegen (meist von 1—4—5 μ), aber, ob klein oder groß, sie weisen fast immer eine ausgesprochen kugelige Form auf. In ganz vereinzelten Fällen konnte ich beobachten, daß eine halbmondförmige Zone lebhafter gefärbt war, während der übrige Teil schwächere Färbung besaß (Fig. 1c), doch handelt es sich dabei, wie gesagt, um Ausnahmefälle. Zuweilen

---

1) Der Autor schlägt zwei Verfahren vor, die er mit A und B bezeichnet. Ich schlug Verfahren B ein, das in folgendem besteht:

1) Färben in alkoholischer Eosinlösung (0,5 g Eosin, 100 g 60-proz. Aethylalkohol) 1 Minute lang.
2) Abspülen in Wasser.
3) Färben in Löfflers alkalischem Methylenblau 1 Minute lang.
4) Abspülen in Wasser.
5) Beizen in Lugolscher Lösung 1 Minute lang.
6) Abspülen in Wasser.
7) Differenzieren in Methylalkohol, bis kein Blau mehr sichtbar und das Präparat ganz rot gefärbt ist.
8) Nachfärben mit Methylenblau ½ Minute lang.
9) Abspülen in Wasser und sorgfältiges Abtrocknen auf Fließpapier.
10) Differenzieren in alkalischem Alkohol (30 ccm Alkohol absol., 1-proz. Lösung von Natrium caust. in Alkohol absol. 5 Tropfen).
11) Differenzieren in saurem Alkohol (30 ccm Alkohol abs. mit 50-proz. Essigsäure 1 Tropfen).
12) Spülen in Alkohol abs., Klärung etc.

schmiegen sich zwei oder mehr solcher Körperchen aneinander an und bringen so, namentlich wenn sie verschieden groß sind, allerlei birnförmige oder bisquitförmige Gebilde hervor, deren einzelne Elemente jedoch unschwer zu erkennen sind.

Nach dem Lentzschen Verfahren färben sie sich ganz gleichmäßig im Gegensatz zu den Gliazellkernen, in denen das Chromatinnetz (Fig. 1b) sichtbar ist.

Lentz beschreibt und bringt auch in Abbildungen einige Fälle, wo diese Innenkörper radial, rosettenartig angeordnet sind, was an die Lagerung der Innenkörperchen in den Negrischen Körpern erinnert. Ich selbst konnte niemals ein ähnliches Bild herausfinden.

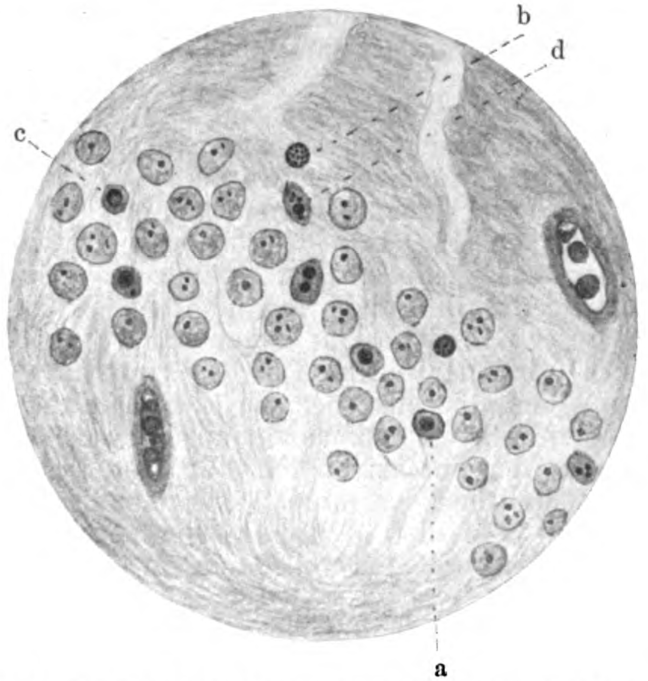


Abb. 1. Schnitt durch Ammonshorn eines mit Passagewut infizierten Kaninchens. Färbung nach Lentz (Methode B). Vergrößerung 1000. (Koristka, homog. Imm. $^1/_{15}$ Kompens.-Okul. 4.) Man sieht Passagewutkörper in ihrem verschiedenen Aussehen: Gebilde mit einem einzigen, mit 2 oder 3 Körnern. **a** Passagewutkörper, scharf umschrieben von rotem Saum, b Gliazellkern, c Körperchen mit halbmondförmigen Körnchen, d Körperchen mit eosinophilen Körnchen. An der Peripherie ein Blutgefäß mit roten Blutkörperchen.

Die Anzahl der Anhäufungen im Innern eines Lentzschen Körpers variiert stark. Oft findet sich nur eine einzige, oft aber auch 2, 3, ja zuweilen bis 6. Sind mehrere vorhanden, so gruppieren sich gewöhnlich verschiedene Dimensionen: sehr häufig ein großer und ein kleiner Punkt nebeneinander.

Aber außer den genannten blauen Körnchen kann man innerhalb dieser Körper auch noch andere Körnchen vorfinden, die Lentz nicht erwähnt. Im Aussehen gleichen sie den vorhin beschriebenen, nur sind sie bedeutend kleiner und nehmen die rote Eosinfärbung an. Sie erinnern lebhaft an die eosinophilen Körnchen gewisser Leukocyten (Fig. 1d).

Die Lentzschen Körper sind stets extracellulär gelagert, daher erscheint es mir überflüssig, wenn Lentz die Merkzeichen aufzählt, die sie von den Negrischen Körpern unterscheiden sollen. Sie befinden sich in den Zellzwischenräumen, und die sie umgebenden Zellen weisen gemeinhin keinerlei Veränderungen auf.

Was ihren Sitz betrifft, gibt Lentz an, sie im ganzen Gehirn verstreut gefunden zu haben, ebenso in der Medulla oblongata und im Rückenmark; besonders häufig aber seien sie im Ammonshorn anzutreffen, in demjenigen Teil der Zone der großen Pyramidenzellen, der dem Seitenventrikel zunächst liegt. Das gibt dem Autor Veranlassung, hervorzuheben, daß seine Körper ihren Sitz vorzugsweise da haben, wo Negris Körper seltener angetroffen werden.

Ich habe meine Untersuchungen auf das Ammonshorn beschränkt: ich habe alle seine Teile untersucht und kann wohl sagen, daß in der von Lentz angegebenen Zone die Körperchen nicht eben gar so zahlreich sind. Vielmehr habe ich eine weit größere Anzahl zwischen den kleinen Pyramidenzellen (körnige Schicht) der Fasciola dentata vorgefunden. In letztgenannter Zone können sie zuweilen derart zahlreich sein, daß 2 oder 3 auf jedes Gesichtsfeld kommen.

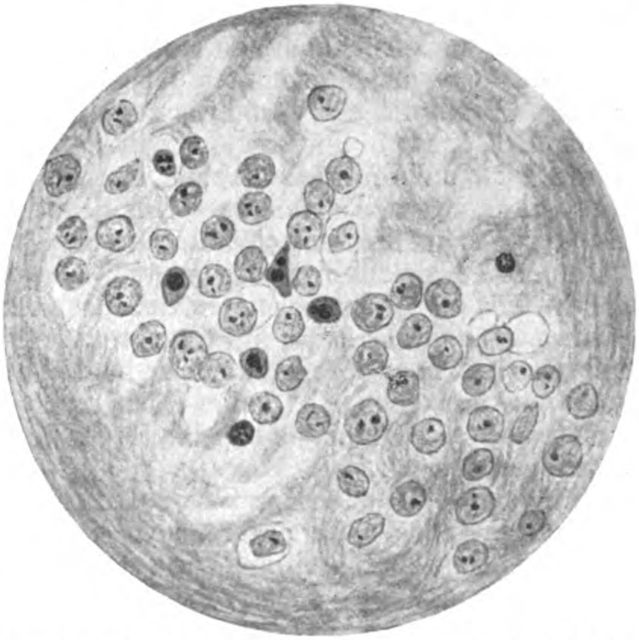


Abb. 2. Schnitt durch das Ammonshorn eines mit Diphtherietoxin geimpften Kaninchens. Färbung und Vergrößerung wie oben. Im Mittelpunkt ein dreieckiges Gebilde und seitwärts davon ein Körper mit eosinophilem Körnchen.

NB. Die von mir gefundenen Körperchen sind nicht so zahlreich, wie sich aus den Zeichnungen ergäbe: man findet nicht mehr als 2 oder 3 auf jedem mikroskopischen Feld. Da ich aber alle möglichen Formen vorführen wollte, mußte ich auf zwei Zeichnungen die in verschiedenen mikroskopischen Feldern vorgefundenen Gebilde vereinigen.

Ich habe auch wiederholte Kontrollversuche am Gehirn gesunder Kaninchen angestellt mit stets negativem Befund.

Nachdem ich somit die Richtigkeit des Lentzschen Befundes festgestellt hatte, war es meine Absicht, eine Antwort zu finden auf zwei Fragen, die gegenüber den beschriebenen Tatsachen sich ganz von selbst aufdrängen, nämlich: Sind diese Gebilde, die sicher nur in pathologischen Fällen vorkommen, spezifisch? Und welches ist ihr Ursprung und ihre Bedeutung?

Zunächst sei die Spezifizität betrachtet:

Lentz hält sie für absolut spezifisch, benennt sie ja auch geradezu „Passagewutkörperchen“. Zu dieser Ueberzeugung kommt er auf Grund zahlreicher, bei den verschiedensten Krankheitsfällen gemachten Beobachtungen, von denen ich einen Fall von Starrkrampf und einen von Tollwut, beide beim Menschen, hervorhebe, und zahlreicher Impfungen mit Virus fixe und Straßenwut an verschiedenen Tieren (Hunden, Katzen, Schweinen, Ochsen, Pferden). Sämtliche Untersuchungen waren völlig ergebnislos.

Hervorzuheben ist jedoch hier, daß unter den von Lentz studierten Krankheiten und Infektionen gerade diejenigen vollständig vermißt werden, die sich vorzugsweise in den Nervenzentren lokalisieren und dabei Erscheinungen hervorrufen, die einigermaßen den von der Passagewut gewöhnlich beim Kaninchen hervorgebrachten vergleichbar sind. Ich werde später auf diese Bemerkung zurückkommen und sie begründen.

Lentz ist so sehr von der Spezifizität der Körperchen überzeugt, daß er auf Grund ihres Befundes ein Verfahren zur diagnostischen Unterscheidung zwischen Passagewut und Straßenwut vorschlägt. Das zu untersuchende Virus wird mehreren Kaninchen eingeimpft, und je nach der größeren und geringeren Anzahl der Kaninchen mit positivem Körperchenbefund werde man die Entscheidung treffen können.

Lentz zieht einen Vergleich zwischen seinen Körperchen und den schon von Schiffmann im Gehirn mit Hühnerpest geimpfter Gänse beobachteten und von genanntem Autor im Centralblatt für Bakteriologie ziemlich eingehend beschriebenen Körperchen; er begnügt sich, die Arbeit kurz zu erwähnen und anzugeben, daß seine Körperchen sich scharf von denen Schiffmanns unterscheiden, indem letztere „die verschiedensten Größenunterschiede“ aufwiesen.

Da es mir nicht gelang, Hühnerpestvirus aufzutreiben, habe ich das Gehirn damit geimpfter Gänse nicht untersuchen können, doch ist die von Schiffmann gegebene Beschreibung und die beigefügte farbige Tafel so augenscheinlich, daß für mich kein Zweifel besteht, daß die Lentzschen Körper und die Schiffmannschen eine und dieselbe Sache darstellen.

Schiffmann beschreibt zweierlei von ihm vorgefundene Körper, von denen uns hauptsächlich die zweite Art, die von ihm „Körperchen mit punktförmigen Innengebilden“ genannt wird, interessiert. Die von Schiffmann gegebene Beschreibung weicht in keiner Hinsicht von der von mir für die Lentzschen Körper gelieferten ab.

Bezüglich des Merkmals der Beständigkeit bezw. Mannigfaltigkeit der Durchmesser, worauf Lentz seine Differentialdiagnose stützt, möchte ich gleich hier bemerken, daß besagtes Merkmal keinerlei absoluten Wert hat.

Zunächst ist zu beachten, daß Schiffmann, der sich hauptsächlich mit den blauen Innengebilden seiner Körper befaßt, angibt, daß diese blauen Innenkörper verschiedene Größenverhältnisse aufweisen können, die eines Erythrocytenkernes oder die kleiner Pünktchen, ohne jedoch irgendwie die Dimensionen des sie umgebenden roten Hofes zu erwähnen.

Andererseits haben zwar die Passagewutkörper in der Regel einen ziemlich konstanten Durchmesser, ca. 7 μ, aber trotzdem werden, allerdings selten, auch solche von anderem Umfang vorgefunden.

Und wenn man auch schließlich die Verschiedenheit und Unbeständigkeit der Durchmesser zugeben sollte, so ist immer noch in Betracht zu ziehen, daß die beiden Verfasser ihre Untersuchungen an verschiedenen Tieren anstellten. Da nun die genannten Elemente zweifellos Degenerationsprodukte irgendeiner Zelle des Organismus darstellen, erscheint die Annahme durchaus logisch, daß ihre Größe je nach dem Versuchstier wechselt, nachdem ja auch bei den verschiedenen Tieren die Größe der Ursprungszelle verschieden ist.

Nachdem sich mir so die Ueberzeugung aufgedrängt hatte, daß die von Lentz bei der Passagewut gesehenen Körper und gewisse der von Schiffmann bei der Hühnerpest beobachteten Gebilde ein und dasselbe seien, war es mein Wunsch, zu untersuchen, ob bei anderen Erkrankungsformen das gleiche Bild erhalten werden würde.

Ich hielt es für zweckdienlich, zur Impfung ein Virus zu verwenden, das die Hirnzellen in Mitleidenschaft ziehen und so Gehirnphänomene, besonders Paralyse, hervorrufen würde.

Besonders geeignet hierzu erschien mir das Diphtherietoxin.

Ich impfte demnach ein Kaninchen damit subdural nach vorheriger Trepanation; ich wählte ein schwach virulentes Material, damit der Krankheitsverlauf ein langsamerer sei: ich bediente mich nämlich eines seit fast Jahresfrist im Laboratorium vorhandenen Toxins, das ich zu gleichen Teilen mit Kochsalzlösung verdünnte. Am 3. Tage zeigte das Kaninchen Lähmung der Vorderglieder und starke Dyspnoë; in der Nacht vom 4. zum 5. Tage verendete das Tier. Aus dem herausgenommenen Gehirn löste ich beiderseits das Ammonshorn aus und fixierte die verschiedenen Stücke teils in Alkohol, teils in Aceton, teils in Zenkerscher Flüssigkeit, teils endlich in sauerem Sublimat (Schaudinn-Mingazzinische Formel). Aus allen diesen Stücken stellte ich ungefähr 40 Schnitte her und konnte ich in sämtlichen Präparaten den bei Passagewut vorgefundenen ähnliche Körper in ihrer typischen Form nachweisen.

Ihre Anzahl war nicht gerade groß, immerhin aber fanden sich wenigstens 2 oder 3 in jedem Präparat. Uebrigens hat die Frage der Häufigkeit keine allzu große Bedeutung, wenn man bedenkt, daß selbe auch beim Passagevirus je nach dem Gehirn enormen Schwankungen unterliegt.

Als Beleg meiner Ausführungen gebe ich zwei Abbildungen bei, deren eine von einem mit Passagewut infizierten Kaninchen und deren zweite von dem mit Diphtheriegift geimpften Kaninchen stammt. Es steht außer Zweifel, daß diese Körperchen mit den bei Passagewut gefundenen identisch sind, demnach (gemäß meinen obigen Ausführungen) auch höchst wahrscheinlich mit den bei der Hühnerpest beobachteten. Ich möchte hierbei bemerken, daß die Zeichnungen nicht eine genaue Wiedergabe des unter dem Mikroskop Gesehenen bringen. In Wirklichkeit sind die Körperchen viel spärlicher, als nach den Zeichnungen anzunehmen wäre; ich wollte eben in zwei mikroskopischen Feldern all die verschiedenen Gestalten, in denen sich diese Körper präsentieren können, vereinigen.

Wir haben somit 3 Fälle, in denen diese Körper nachweisbar sind: Passagewut-, Diphtherie-, Hühnerpestinfizierung, d. h. bei drei Infektionen, deren Grunderscheinungen bei Tieren cerebralen Ursprungs sind und hauptsächlich in Lähmung zutage treten.

Zugegeben also, daß sich bei den genannten Erkrankungen Krankheitsbilder ergeben, die gewisse Berührungspunkte aufweisen, so läßt sich füglich annehmen, daß ein gleicher mikroskopischer Be-

fund auch bei anderen Krankheitsformen, die mit den von mir untersuchten ein Vorwiegen der cerebralen Phänomene, namentlich der Lähmung, gemein haben, angetroffen werden kann.

Nachdem so jegliche Spezifizität der **Lentz**schen Körper ausgeschlossen erscheint, liegt die Frage nach ihrer Bedeutung nahe.

Schiffmann konnte nachweisen, daß das Auftreten dieser Körper in direktem Zusammenhang stand mit dem Zutagetreten einer toxischen Eigenschaft des sie enthaltenden Gehirnes. Ohne jedoch eine direkte Deutung zu geben, beschränkt er sich darauf, die Möglichkeit einer pyknotischen Entartung der Zellen auszuschließen.

Lentz hingegen betrachtet die Körper, deren bei mit Straßenwut infizierten Kaninchen spärliche und bei den folgenden Passagen progressiv zunehmende Zahl er hervorhebt, als Ergebnis eines Entartungsprozesses der Hirnzellnerven: es erfolge eine Zerstückelung des Kernes, eine Verklumpung der Bruchstücke und die Trennung des Kernkörpers in einen mit Eosin färbbaren Teil und einen anderen, sich intensiv blau färbenden Teil. Infolge gleichzeitiger Degeneration des Protoplasmas befände sich schließlich der so entartete Kern frei im Gewebe.

Beide Autoren endlich ziehen Vergleiche zwischen ihren Körperchen und den **Negri**schen Körpern, worauf ich jedoch nicht einzugehen beabsichtige.

Gleich das erste Mal, da ich die **Lentz**schen Körper sehen konnte, drängte sich mir die Meinung auf, daß es sich um entartete Leukocyten handle. Diese meine Ansicht findet ihre Bestätigung vor allem in dem Aussehen und den Färbungseigenschaften des Kerns und des Protoplasmas, wie selbe schon von mir beschrieben wurden. In zweiter Linie ist es gar nicht schwer, im Innern dieser Körper neben den blauen Punkten kleine rote Körnchen anzutreffen, die vollkommen an die eosinophilen Granulationen gewisser Leukocyten erinnern.

Das eingeimpfte Virus oder Toxin fixiert sich in den Hirnzellen: während nun einerseits cerebrale Erscheinungen zutage treten und das Gehirn toxische Eigenschaften annimmt, treten gleichfalls im Gehirn bedeutende Mengen von Leukocyten auf, die vielleicht durch die Wirkung des Giftes selbst der Auflösung oder Nekrose verfallen.

Die Beobachtungen **Schiffmanns**, **Lentz**'s und meine eigenen betreffen eben diesen Tatbestand, nachdem nämlich der Leukocytenkern eine Art von Verflüssigung erlitten hatte, infolge deren er innerhalb des (noch so ziemlich erhaltenen) Protoplasmas in Form von mehr oder weniger großen Tropfen sich befand. Nur so, glaube ich, läßt sich die genau kugelige Gestalt der Innenkörperchen erklären.

Diese Art von Verflüssigung ist in der Pathologie unter dem Namen Chromatolyse bekannt.

Das ist meine Auffassung bezüglich dieser Körperchen. Meine Ausführungen lassen sich zusammenfassen in folgende

Schlußfolgerungen:

1) Bei Kaninchen, denen Passagewut eingeimpft worden ist, sind besonders geartete Körperchen in der Gehirnsubstanz verstreut anzutreffen, wie sie von **Lentz** beschrieben worden sind. Diese Körperchen kommen im normalen Gehirn nicht vor.

2) Genannte Körperchen sind keineswegs spezifisch; sie finden sich

auch im Gehirn von Kaninchen nach Impfung mit Diphtherietoxin und sind höchstwahrscheinlich identisch mit den „Körperchen mit punktförmigen Innenkörpern“, die von Schiffmann bei Gänsen nach Infektion mit Hühnerpestvirus beschrieben worden sind (siehe Fig. 2 der Arbeit des genannten Verfassers).

Es erscheint demnach die Annahme logisch, daß diese Körper wahrscheinlich auch bei anderen Infektionen vorgefunden werden, namentlich bei solchen, die sich in den Nervenzentren lokalisieren.

3) Höchstwahrscheinlich handelt es sich dabei um im Zerfall begriffene Leukocyten.

25. Mai 1909.

Nachdruck verboten.

Ueber einen Fall von Actinomycespyämie mit retrograder Embolie.

[Aus dem pathologisch-bakteriologischen Institut der mährischen Landeskrankenanstalt in Brünn. (Vorstand: Prof. Dr. Carl Sternberg.)]

Von Dr. **Richard Pollak,** k. u. k. Regimentsarzt.

Die Strahlenpilzerkrankungen wurden in den letzten 30 Jahren vielfach erforscht, insbesondere sind es die Arbeiten von Boström, Wolff und Israel, Berestnew u. a., welche Klarheit über diese Krankheit und ihren Erreger brachten.

Trotz der umfangreichen einschlägigen Literatur erachten wir es für begründet, einen Fall von Actinomyces-Pyämie ausführlicher mitzuteilen, da er in mehrfacher Richtung bemerkenswert ist.

Einerseits verdient schon die Generalisation des Prozesses Beachtung. Wenn auch die Aktinomykose nicht zu den seltenen Erkrankungen gehört, so ist doch die Allgemeininfektion durch Strahlenpilze kein besonders häufiger Befund. Ueber derartige Fälle berichteten Wolff und Israel, Illich, König, Abée, Benda, Richter, Meier, Fütterer, Wright, Baum, Kisling, Jenckel u. a. Häufiger scheint diese Form der Aktinomykose bei Tieren vorzukommen; Assmann publizierte 11 Fälle.

Die Mitbeteiligung der weiblichen Geschlechtsorgane in unserem Falle gehört ebenfalls zu den selteneren Begleiterscheinungen dieser Erkrankung. Bis zum Jahre 1902 fand Henriot in der gesamten deutschen und französischen Literatur 15 solche Fälle (3mal primäre, 12mal sekundäre Infektion des Genitales). Hamm und Keller referieren im Centralblatt für Bakteriologie 1908 über einen Fall von Genitalaktinomykose, welchem Berichte sie ein Verzeichnis von 22 bekannten Fällen aus der Literatur voraussenden.

Unser Fall ist ferner auch dadurch bemerkenswert, daß, wie wir später näher ausführen werden, eine retrograde Embolie in der Leber vorliegt, und daß der vorgefundene Actinomyces-Pilz sich in einem Versuche für Meerschweinchen pathogen erwies.

Der klinische Verlauf der Erkrankung ist ebenfalls von Interesse. Es handelte sich um eine 47 Jahre alte Bauersgattin, die von Ende Juli

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bis Mitte August 1908 auf der Abteilung des Primarius Dr. Mager in Behandlung stand und zu dieser Zeit alle Symptome eines Typhus abdominalis (Widalsche Reaktion positiv) darbot. Beiläufig 14 Tage nach der Entlassung aus der Anstalt trat neuerdings Fieber auf, sowie Schmerzen in der linken Seite und Husten mit eiterigem Auswurfe.

Am 27. Sept. wurde die Kranke auf die Abteilung des Primarius Dr. Vanysek aufgenommen. Bei der ersten Untersuchung bot sie folgenden Befund: Temperatur 37,9°. Leicht rostfarbiges Sputum. Verkürzung des Perkussionsschalles rechts rückwärts ad basim auf ca. 2 Querfinger, daselbst auch reichlich kleinblasige Rasselgeräusche. Milz nicht tastbar. Leberrand 4 Finger unterhalb des Rippenbogens.

Im weiteren Verlaufe traten Schüttelfröste auf; in der Lunge beiderseits ad basim reichlich feuchte Rasselgeräusche bei verkürztem Perkussionsschalle, links ausgedehntes Bronchialatmen.

Am 26. Okt. Exitus.

Klinische Diagnose: Sepsis. Bronchitis purulenta. Typhus peractus ante menses III.

Obduktionsdiagnose (Prof. Dr. Sternberg): Septicaemia. Pyosalpinx bilateralis praecipue sin. Abscessus hepatis e thrombose purul. venae hepaticae (embolia retrogratiens). Abscessus numerosi pulmonum. Abscessus seclus. in abdomine. Tumor lienis acutus.

Obduktionsprotokoll: Körper mittelgroß, gracil gebaut, abgemagert. Die allgemeine Decke blaß, auf der Rückseite spärliche blasse Totenflecke. Die weichen Schädeldecken blaß, die Dura mater gespannt, die inneren Hirnhäute zart, die Hirnsubstanz blaß, sonst ohne Befund.

Das Unterhautzellgewebe fettarm, die Muskulatur welk, blaßbraunrot.

Beide Lungen frei, der Unterlappen beiderseits durchsetzt von zahllosen, durchschnittlich kirschkern- bis haselnußgroßen, glattwandigen, mit zähem grünen Eiter gefüllten Abscessen. Vereinzelte solche finden sich auch in den rückwärtigen Anteilen der Oberlappen. Im Herzbeutel einige Tropfen klaren Serums, das Herz im linken Ventrikel etwas erweitert, das Herzfleisch auffallend blaß, stellenweise gelb gebändert und getigert. Die Klappen zart und schlußfähig, die Aortenintima glatt.

Die Lagerung der Bauchorgane zeigt folgende Abweichungen: die Flexura hepatica des Querkolons ist mit der Rückfläche der Leber verwachsen, ebenso das untere Ileum und die Flexura sigmoidea mit der Rückfläche des Uterus, wodurch der Douglassche Raum nach oben abgeschlossen erscheint. Die Milz ist etwa auf das fünffache vergrößert, sehr weich, graurot, reichlich Pulpa ausstreifbar.

Die Leber, von gewöhnlicher Größe, mit glatter Oberfläche und von braunroter Farbe, zeigt auf einem quer durch die Mitte geführten Durchschnitte eine kleine Gruppe von Absceßchen, welche in ihrer Anordnung anscheinend Aesten der Lebervene folgen. Beim Versuch, die Pfortader bloßzulegen, reißt ein hühnereigroßer, mit dickem grünen Eiter gefüllter Absceß ein, der, zwischen der hinteren Fläche des rechten Leberlappens und dem Querkolon gelegen, gut abgekapselt war. Die Pfortader und ihre Aeste, ebenso die Gallenwege, erweisen sich vollkommen zart und frei. Bei weiterer Untersuchung der Leber findet sich ein größerer Absceß zwischen Rückfläche des linken Leberlappens und Magen, der ebenfalls abgekapselt, der Leberoberfläche aufgelegen, nicht in der Leber befindlich ist.

In dem Hauptstamme der Vena hepatica, an der Einmündung in die Vena cava, findet sich ein einen Teil des Umfanges einnehmender, eiterig erweichter, an der Wand festhaftender Thrombus; das an die Hauptstämme der Vena hepatica angrenzende Lebergewebe ist in größerem Umfange von dicht gedrängten, kleinen Absceßchen durchsetzt, aus einzelnen derselben gelangt die Sonde in die Aeste der Lebervene.

Beide Nieren von gewöhnlicher Größe, am Durchschnitt blässer, sonst ohne wesentlichen Befund. Desgleichen die Harnblase.

Der Uterus etwas größer und dicker, seine Wand fibrös.

Die Adnexe der linken Seite verbacken, in Schwarten eingebettet, so daß Tube und Ovar nicht isolierbar sind. Auf Durchschnitten erscheint das Tubenlumen mit dickem grünen Eiter erfüllt, das Ovar von Eiterherden durchsetzt. Die Adnexe der rechten Seite frei, jedoch die Tube gleichfalls mit Eiter gefüllt.

Der Dickdarm ohne wesentliche Veränderung, nur dort, wo er am Uterus fixiert war, äußerlich schwarz verfärbt.

Ebenso finden sich an der Serosa des Ileums, dort, wo dasselbe am Uterus angewachsen war, schwarz verfärbte Stellen, welche auch durch die Mucosa durchschimmern. Sonst der Magen- und Darmkanal ohne jedwede Veränderung, nirgends im Ileum Pigmentierung der Plaques erkennbar.

Die mesaraischen Lymphdrüsen leicht geschwollen, die Vena mesaraica und ihre Aeste, ebenso die Vena cava und die Beckenvenen frei.

Kehlkopf-, Hals- und Rachenorgane ohne pathologischen Befund.

Zur bakteriologischen Untersuchung gelangten der Eiter aus dem Douglasschen Raume, Lunge, Leber, Milz, Gallenblase und die linken Adnexe. Die verschiedenen untersuchten Eiterproben enthielten kleinste Körnchen von mäßig harter Konsistenz und weißlichgelber Farbe.

Mikroskopisch erwiesen sich dieselben als Pilzdrusen, welche aus einem verfilzten Gewirre von Fäden bestanden und peripher kolbige Endauftreibungen zeigten.

In den gefärbten Abstrichpräparaten fanden sich reichlich nach Gram färbbare, segmentierte Fädenknäuel, unter denen diphtherieähnliche, leicht gebogene Stäbchen mit kolbig verdicktem Ende, sowie kokkenartige rundliche Formen sichtbar waren. An einzelnen Stäbchen sah man Verzweigungen, viele waren winklig zueinander gelegen.

Die Eiterproben aus dem Douglasschen Raume, aus den Lungen- und Leberabscessen enthielten ausschließlich derartige Formen; im Eiter aus dem Genitale fanden sich überdies verschiedene irrelevante, scheinbar der Darmflora angehörige Bakterienarten. Gallenblasensekret und Milzabstrich enthielten keine Mikroorganismen.

Mit Rücksicht auf das klinische Bild der Erkrankung wurde, wenn auch die Obduktion keinen wie immer gearteten Anhaltspunkt für eine typhöse Darmerkrankung bezw. Sepsis post typhum peractum geboten hatte, die kulturelle Untersuchung auch auf Typhusbacillen vorgenommen.

Aus den verschiedenen Eiterproben, sowie aus dem Gallenblaseninhalt und Milzabstriche wurden Platten nach Konradi-Drigalski, Agarplatten, aërobe und anaërobe Zuckeragar-, sowie Bouillonkulturen angelegt.

Die Kulturen auf Konradi-Drigalskischem Nährboden blieben steril, ebenso die Agar- und Zuckeragarplatten (von einigen zufälligen Verunreinigungen abgesehen), nur sah man am 5. Tage eine geringere Größenzunahme der Körnchen, welche dem Eiter aus dem Douglasschen Raume und aus Leber- und Lungenabscessen entstammten. Diese Zunahme fand etwas deutlicher auch im Zuckeragarröhrchen, noch ausgesprochener in der Bouillon statt.

Die Bouillon erwies sich auch als der für die Fortzüchtung bestgeeignete Nährboden. Dieselbe blieb immer vollkommen klar, am Boden entwickelte sich ein weißes Körnchen, welches allmählich bis zu Hanfkorngröße zunahm und aus einem härteren Kern und weicherer Peripherie bestand. Mit dem Aelterwerden der Kultur wurde die Farbe des Klümpchens dunkler, die weiche periphere Zone größer. Beim Aufrütteln oder beim Berühren mit der Platinöse zerfiel das Körnchen in kleinste Teilchen, welche später zu Boden sanken, wo sie sich jedoch nicht mehr zusammenballten. Hierbei wurde die Bouillon nicht trübe. Im Kolben unter Paraffinabschluß war das Wachstum besonders üppig, nahezu der ganze Boden war mit Klümpchen belegt.

Die mikroskopische Untersuchung einer Kultur im hohlen Objektträger ergab, daß das Wachstum ein sehr langsames ist und hierbei verzweigte Formen jener Art auftreten, wie wir sie beim Actinomyces-Pilze zu sehen gewohnt sind.

Auf Agar-, Zuckeragar- und Milchserumagarplatten zeigten die ausgesäten Körnchen eine mäßige Größenzunahme. Sie waren trocken, schwer vom Nährboden ablösbar, unter dem Mikroskope dunkel braunschwarz, scharf begrenzt, etwas buchtig.

Auf schräg erstarrtem Agar, sowie im Zuckeragarstich war das Wachstum der Körnchen etwas rascher und deutlicher, jedoch auch nicht üppig.

Auf Löfflerserum bemerkte man ein leichtes Einsinken der Körnchen, jedoch auch hier kein üppiges Wachstum.

Auf Gelatineplatten und Kartoffel wiesen die Körnchen keine Volumenzunahme auf, im Gelatinestich war das Wachstum in der Mitte des Stiches spärlich. Die Gelatine blieb fest.

Milch bot keine Veränderung.

Diese Kulturergebnisse zeigen, daß unser Stamm sowohl aërob als anaërob nur langsames Wachstum aufwies und relativ besser dort gedieh, wo Luftzutritt spärlicher war.

Bei der Färbung der Körnchen aus verschiedenen Kulturen ergab sich nun, daß dieselben aus gramfärbbaren diphtherieähnlichen Stäbchen mit kolbigen Endanschwellungen bestanden, welche leicht gekrümmt, häufig winklig zueinander gestellt, oft verzweigt waren. Jüngere Kulturen zeigten ausschließlich diese Form. Je älter die Kultur, desto länger waren die Stäbchen, desto deutlicher an einzelnen die kolbige Verdickung der Enden; in ältesten Kulturen fanden sich nebst Stäbchen lange Fäden, häufig mit deutlicher Astbildung. Auch die Gramfestigkeit nahm mit dem Aelterwerden der Kultur deutlich ab, die kürzeren blaßviolett gefärbten Formen erschienen im roten Fadenflechtwerk eingestreut.

Fassen wir nun das Ergebnis der mikroskopischen und kulturellen Untersuchung zusammen, so ersehen wir daraus, daß der gefundene Pilz dem Actinomyces-Pilze morphologisch und kulturell gleicht. Er stimmt mit dem von Wolff und Israel beschriebenen überein, wie ihn auch andere Autoren, wie Aschoff, Urban, Levy, Sternberg, Silberschmidt u. a. m. fanden und schildern. Gegenüber dem Befunde von Protopopoff und Hammer, welche auf Kartoffel üppiges Wachstum beobachteten, zeigt unser Stamm auf diesem Nährboden keine Zunahme. Von der Pseudoaktinomykose Berestnews unterscheidet ihn das aërobe Wachstum und die Geruchlosigkeit der Bouillon. Der Streptothrix Eppingeri bildet Oberflächenhäutchen auf Bouillon.

Um jedoch die Diagnose unzweifelhaft sicherzustellen, wurde die Kultur mit 2 Stämmen verglichen, welche aus klinisch sicheren Fällen von Aktinomykose gewonnen wurden. In einem Falle handelte es sich um Aktinomykose des Unterkiefers, im zweiten um eine Darmaktinomykose. Sowohl mikroskopisch, als auch im kulturellen Verhalten fanden wir bei allen 3 Stämmen vollste Uebereinstimmung, so daß wir die im vorliegenden Falle gefundene Pyämie mit Bestimmtheit als durch den Actinomyces-Pilz hervorgerufen bezeichnen können.

Um die Tierpathogenität des gefundenen Pilzes zu bestimmen, wurde der mit steriler Bouillon verdünnte Eiter aus dem Douglasschen Raume je einem Kaninchen und einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert, ferner Körnchen aus Bouillonkulturen klein zerdrückt und einem Kaninchen intravenös, einem Meerschweinchen intraperitoneal einverleibt. Endlich wurden Meerschweinchen Aufschwemmungen solcher Körnchen mit Streptokokkeneiter vom Menschen gemengt intraperitoneal injiziert. Die letzteren 3 Versuche wurden gleichzeitig mit den Kontrollstämmen vorgenommen.

Bis auf das Meerschweinchen, welchem frischer Eiter intraperitoneal einverleibt wurde, blieben alle Versuchstiere gesund.

Dieses Meerschweinchen ging nach $3^1/_2$ Monaten ein. Bei der Sektion fand sich in der rechten Hälfte der Bauchhöhle ein Konvolut von Darmschlingen, welche untereinander und stellenweise auch mit der vorderen Bauchwand verwachsen waren. Sowohl auf der Oberfläche der Darmschlingen, als auch in dem zwischen ihnen gelegenen Schwielengewebe fanden sich kleine weißgelbe Knötchen.

Bei der histologischen Untersuchung sahen wir in ein derbes Schwielengewebe eingelagerte reichliche, dicht gedrängte, kleinere und größere Abscesse, von welchen jeder im Zentrum eine wohlentwickelte, gut färbbare Actinomyces-Druse enthielt. Alle diese Drusen waren annähernd gleich groß. Die reichliche Entwickelung von Abscessen, wie wir solche auch beim Menschen bei dieser Erkrankung sehen, von denen jeder eine Druse enthielt, weiter die große, zweifellos die Zahl der injizierten weit übertreffende Menge von Drusen, berechtigen uns zu dem Schlusse, daß es sich hier um eine tatsächliche Erkrankung an Aktinomykose handelt. Die gleichartige Entwickelung der Drusen, ihre nahezu gleiche Größe, sowie die gleichmäßig gute Färbbarkeit derselben sprechen für eine gleichalterige Entwickelung.

Eine bloße Wirkung der injizierten Actinomyces-Drusen als Fremdkörper im Sinne Boströms können wir aus oben erwähnten Gründen für diesen einen Versuch wohl ausschließen. In der Literatur finden wir mehrfach Angaben über Tierversuche mit Actinomyces-Pilzen, jedoch sind die Erfolge wechselnd. Während Nakayama den Actinomyces-Pilz für Meerschweinchen als „so gut wie gar nicht virulent" hält, berichten Aschoff, Hamm und Keller über Versuche mit positiven Erfolgen. Wolff und Israel fanden bei ihren zumeist an Kaninchen vorgenommenen Versuchen intraperitoneale Tumoren von verschiedener Größe, welche teils in der Bauchwand, teils in den Eingeweiden lagen und typische Actinomyces-Drusen enthielten. Von unseren Versuchen hatte, wie berichtet, nur die Injektion des frischen Eiters positiven Erfolg, während Kulturen, die längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet wurden, sich im Tierversuche nicht pathogen erwiesen.

Zur histologischen Untersuchung gelangten Stücke aus der Lunge, Leber und aus den linksseitigen Adnexen, welche in Schwarten eingebettet und teils untereinander, teils mit dem Darme verwachsen waren.

In der Lunge finden sich zahlreiche kleinere und größere, teils im Inneren, teils subpleural gelegene Abscesse, welche größere Gruppen von Alveolen umfassen, deren Wandungen teilweise noch erhalten sind. Im Zentrum der Abscesse sieht man meistenteils Pilzdrusen. Peripher grenzen sie sich meist unscharf gegen das angrenzende Gewebe ab, in welchem sich zahlreiche bronchopneumonische Herde finden. Die Alveolen enthalten ein bald dichteres, bald mehr lockeres Fibrinnetz und ein- und mehrkernige Leukocyten. Die Alveolarwandungen sind stellenweise verbreitert, derber, stellenweise auch von Leukocyten durchsetzt. Die Aeste der Arteria pulmonalis zeigen häufig eine sehr beträchtliche Verbreiterung ihrer Wand und namentlich an vielen Stellen eine dichte Infiltration mit ein- und mehrkernigen Leukocyten. Im Lumen vieler Aeste finden sich am Querschnitt ganze Pilzdrusen oder kleinere oder größere Knäuel von Pilzfäden. An einzelnen dieser Aeste ist die ganze Wand dicht von Leukocyten durchsetzt, dabei auch vielfach verdünnt, eiterig eingeschmolzen und an einzelnen Stellen durchbrochen.

Die kleineren und größeren Bronchien sind zum Teil ganz ohne Veränderung oder zeigen nur eine (postmortale) Ablösung der Epithelzellen in Form zusammenhängender Verbände. Zum Teil ist ihr Lumen mit polynukleären Leukocyten, zwischen welchen — innig mit ihnen vermengt — bisweilen Pilzfäden liegen, dicht erfüllt, bisweilen zeigt auch die Wand eine geringere oder stärkere Infiltration mit denselben Elementen. An einzelnen Bronchialästen ist die Wand völlig eingeschmolzen und fehlt auf kürzere Strecken vollständig, bisweilen steht ein Bronchus in direkter Verbindung mit einem der früher beschriebenen Abscesse. Die Blutgefäße der Pleura sind stellenweise, namentlich in der Nähe von Abscessen oder über denselben, erweitert.

Leber. Die größeren buchtigen Hohlräume, die ihrer Form nach offenbar durch Konfluenz mehrerer kleinerer Abscesse entstanden sind, schließen reichlich große Pilzdrusen ein. In der Umgebung dieser Abscesse findet sich ein kernarmes, derbes, dichtes, wie schwieliges Bindegewebe, in welchem allenthalben Reste von Leberläppchen, sowie Leberzellbalken oder vereinzelte Leberzellgruppen und gewucherte Gallengänge eingeschlossen sind.

Die angrenzenden erhaltenen Leberläppchen zeigen durchweg eine oft sehr beträchtliche Verbreiterung der Kapillaren und dementsprechend eine Verschmälerung der Zellbalken; diese Veränderung betrifft im allgemeinen die Läppchen nicht gleichmäßig, sondern Teile derselben, und zwar mehrfach an benachbarten Läppchen die aneinander angrenzenden Teile, im allgemeinen derart, daß ein keilförmiger Bezirk eines Läppchens die beträchtliche Erweiterung der Kapillaren aufweist, welch letztere dann auch stark mit Leukocyten gefüllt sind. Mehrfach zeigt auch die Zentralvene im Läppchen eine starke Erweiterung. An mehreren Stellen erreicht die Erweiterung der Leberkapillaren einen solchen Grad, daß lakunenartige Räume entstehen, in welche stark verschmälerte Leberzellbalken isoliert hineinragen. In solchen Anteilen sind auch die angrenzenden sublobulären Venen beträchtlich erweitert.

An einzelnen Präparaten erscheint eine große Lebervene (in einem nahe der Oberfläche, angrenzend an einen großen Absceß, gelegenen Stück) durch einen reichlich kanalisierten Thrombus ausgefüllt.

Auf Schnitten durch jene im Protokoll erwähnte, an der Einmündungsstelle der Vena hepatica in die Vena cava gelegene, thrombosierte Vene zeigt sich in dieser, sowie in einem mitgetroffenen, in sie einmündenden großen Ast die Intima herdweise stark verdickt, so daß sie in Form von Buckeln in das Lumen vorragt. Dieses ist zum Teil mit weitmaschigem Fibrin und polynukleären Leukocyten erfüllt, zwischen welchen an einer Reihe von Schnitten eine Actinomyces-Druse zu sehen ist.

Bei der histologischen Untersuchung des linksseitigen Adnextumors finden sich die umfangreichsten, ausgedehntesten, vielfach zu größeren Herden untereinander konfluierenden Abscesse, die zahllose kleinere und größere Pilzdrusen einschließen und in ein derbes Schwielengewebe eingeschlossen sind.

In einzelnen Stücken ist das Ovar, in anderen die Tube mitgetroffen, die beide innig mit dem umgebenden Schwartengewebe verwachsen sind. Ersteres zeigt nur geringe entzündliche Veränderungen. Die Tube weist eine entzündliche Infiltration in den äußeren Schichten ihrer Wand, sowie eine beträchtliche Verbreiterung ihrer Schleimhaut auf, in welche zahlreiche Russelsche Körperchen, sowie insbesondere reichlich Plasmazellen, teils einzeln, teils in dichten Haufen eingelagert sind, so daß ähnliche Bilder zustande kommen, wie sie Schridde bei der gonorrhoischen Salpingitis beschrieben hat.

Eine zusammenfassende Betrachtung der im vorstehenden geschilderten histologischen Befunde ergibt mithin, daß in sämtlichen untersuchten Organen sich reichlich Abscesse fanden, die durch den Actinomyces-Pilz hervorgerufen waren. Zugleich ergibt aber die histologische Untersuchung wertvolle Anhaltspunkte für die Erklärung der Ausbreitung des Prozesses.

Der Befund an den Aesten der Lungenarterie und ganz besonders der Nachweis von Pilzdrusen innerhalb derselben zeigt wohl deutlich, daß die Herde in der Lunge auf dem Blutwege zustande gekommen sind. Damit steht auch das makroskopische Bild der Abscesse in Einklang, die vollkommen vereiterten Infarkten entsprechen.

Einige Schwierigkeit bereitet die Erklärung der Entstehung der Leberabscesse. Der makroskopische Befund, die Anordnung der Herde entsprechend den Lebervenen, der Nachweis eines eiterigen Thrombus in der Vena cava an der Einmündung der Venae hepaticae bei normaler Beschaffenheit der übrigen Gefäße in der Leber, mußte bereits die Annahme nahelegen, daß hier eine retrograde Embolie vorliege.

Diese Erklärung fand durch die histologische Untersuchung, soweit dieselbe in der vorliegenden Frage einen Schluß zuläßt, eine wesentliche Stütze, indem die histologischen Veränderungen in der Leber im wesentlichen mit jenen Befunden übereinstimmen, die von anderen in analogen Fällen erhoben wurden, vergl. z. B. Risel, Meixner etc. Von besonderem Interesse ist hier die Beobachtung Abées, da derselbe gleichfalls eine Actinomyces-Pyämie mit retrograder Embolie in die Leber beschreibt.

Auch in seinem Falle gingen die Abscesse vorwiegend von Aesten der Vena hepatica aus. Diese waren zum Teil sehr stark ausgedehnt, von Gerinnungsmassen und eiterigen Thromben erfüllt. Zuweilen war die Venenwand stark verdickt, an manchen Stellen aber hatte sich der Prozeß durch die Gefäßwand hindurch auf das nächstliegende Lebergewebe fortgesetzt. Im Falle Abées schien jedoch ein Teil der Abscesse auch von den Pfortaderästen, in welchen häufig frische Thrombenmassen lagen, ausgegangen zu sein.

Was die Entstehung der retrograden Embolie anbelangt, wird im allgemeinen partielle Umkehr des Blutstromes, sei es durch Zirkulationsstörungen, sei es durch Erhöhung des intrathorakalen Druckes, als Ursache angenommen.

Nach dem anatomischen Bilde kann es wohl keinem Zweifel unterliegen, daß als die älteste Veränderung die aktinomykotische Geschwulst im Becken anzusprechen ist. Wie in der Mehrzahl der Fälle, dürfte auch in unserem Falle die Infektion vom Darme ausgegangen sein, wofür durch die mehrfache Verwachsung des Darmes mit den Adnexen reichlich Gelegenheit gegeben war. Diese Annahme liegt um so näher, als es sich um eine Bäuerin handelte, die wohl häufig genug mit Getreidegrannen in Berührung gekommen sein dürfte.

Zweifellos sind nun innerhalb dieser aktinomykotischen Geschwulst im Becken Pilze in kleine Venen hineingelangt, wodurch sich in weiterer Folge die partielle aktinomykotische Thrombose der Vena cava und die Infektion der Aeste der Arteria pulmonalis, sowie endlich die retrograde Embolie in die Leber von selbst erklären. Auch in dem vorliegenden Falle hat sich mithin der Actinomyces-Pilz auf dem Wege der Blutbahn im Körper verbreitet, was Boström gegenüber Rabe, Bang und Kitt, welche eine Ausbreitung auf dem Lymphwege annahmen, als Regel bezeichnet.

Literatur.

Abée, Drei Fälle von tödlich verlaufener Aktinomykose. (Zieglers Beiträge. Bd. 22. 1897.)
Amersbach, Zieglers Beiträge. Bd. 45. p. 341.
Aschoff, Ein Fall von primärer Lungenaktinomykose. (Berliner klin. Wochenschr. 1895.)
Assmann, Generalisierte Aktinomykose. (Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1904. No. 7.)
Baum, Ein Beitrag zur Klinik der Aktinomykose. (Berliner klin. Wochenschr. 1908. No. 5.)
Benda, Zwei Fälle von metastasierender Aktinomykose. (Münchener med. Wochenschrift. 1900.)
Berestnew, Ueber Pseudoaktinomykose. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 29.)
— Zur Aktinomykosefrage. (Prager med. Wochenschr. 1899.)
Birch-Hirschfeld, Aktinomykosis. (Eulenburgs Realencyklopädie. Bd. 1.)
Boström, Untersuchungen über die Aktinomykose des Menschen. (Zieglers Beiträge. Bd. 9.)
Fütterer, Ein Fall von Aktinomykose der Lunge, der Leber und des Herzens beim Menschen. (Virchows Archiv. Bd. 171.)
Hamm und Keller, Beitrag zur Aktinomykose der weiblichen Geschlechtsorgane. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 42. No. 22/23.)
Henriot, De l'actinomycose des organes genitaux. [Thèse.] Lyon. (Ref. Centralbl. f. Bakteriol. 1902.)
Jenckel, Beitrag zur Chirurgie der Leber und der Gallenwege. (Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. 98. 1909. Fall 11.)
Illich, Beitrag zur Klinik der Aktinomykose. Wien 1892.
Kisling, Bericht im ärztlichen Verein in Hamburg, 10. Nov. 1908. (Münchener med. Wochenschr. 1909.)
König, Ein Fall von Aktinomykose. [Diss.] Berlin 1884.
Lewy, Centralbl. f. Bakteriol. Bd. 26 u. 33.
Meier, Beitrag zur Kasuistik der generalisierten embolischen Aktinomykose. [Diss.] München 1904.
Meixner, Ein Fall von retrograder Embolie der Lebervenen. (Zeitschr. f. Heilkunde. Bd. 28. 1907.)
Nakayama, Impfversuche mit A. aster. Eppinger an Meerschweinchen. (Archiv f. Hygiene. Bd. 58.)

Protopopoff und **Hammer**, Ein Beitrag zur Kenntnis der Aktinomykosekulturen. (Zeitschr. f. Heilk. Bd. 11. 1890.)
Rabe, Wochenschr. f. Tierheilk. 1880; Berliner tierärztl. Wochenschr. 1888.
Richter, Zwei Fälle von Aktinomykose als Beitrag zur Kenntnis der Generalisation aktinomykotischer Erkrankungen. [Diss.] Kiel 1901.
Risel, Ueber die erste Entstehung von Leberabszessen durch retrograde Embolie. (Virchows Archiv. Bd. 182. 1905.)
Schlegel, Aktinomykose. (Handbuch von Kolle-Wassermann. Bd. 2. 1903.)
Silberschmidt, Zur bakteriologischen Diagnose der Aktinomykose. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 47.)
— Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 38.
Sternberg, Zur Kenntnis des Actinomycespilzes. (Wiener klin. Wochenschr. 1899. p. 24.)
Urban, Münchener med. Wochenschr. 1897.
Wolff und **Israel**, Ueber Reinkulturen des Actinomyces und seine Uebertragbarkeit auf Tiere. (Virchows Archiv. Bd. 126.)
Wright, The biology of the microorganism of Actinomycosis. Boston 1905.

Nachdruck verboten.

Zur Kenntnis der Trachomkörperchen.

[Aus der Augenklinik der Kgl. Universität in Parma
(Direktor: Prof. Dr. C. Gallenga).]

Von Dr. **E. Cecchetto**, Assistenten.

Mit 1 Tafel.

Wie bekannt, sind die Trachomkörperchen nicht bei allen Fällen und in allen Krankheitsperioden zu finden.

Ich will mich jetzt mit diesem strittigen Punkte nicht beschäftigen, sondern verweise auf die unter Mitwirkung und Leitung des Herrn Prof. Bertarelli veröffentlichten Beobachtungen, wie auch auf mehrere neue Arbeiten [1].

Ich erlaube mir jetzt, das Resultat der Untersuchungen mehrerer Präparate bekanntzugeben, die ich an über 100 Patienten dieser Klinik und unter den Schülern der munizipalen Schule für die Trachomatösen der Stadt (Parma) bei den verschiedenen Krankheitsperioden und besonders über die Anfangs- und exazerbierenden Fälle machen konnte.

Ich habe immer Giemsa-Flüssigkeit (1 Tropfen auf 1 ccm Wasser) gebraucht und nach Fixierung mit Alkoholäther die Färbung der Präparate 24 Stunden hindurch verlängert.

Bei den Präparaten, wo die Färbung gelungen ist, erscheint das Protoplasma der getroffenen Zellen mehr oder minder entfärbt, so daß ihr Umkreis kaum sichtbar ist, und man denken kann, daß die Trachomkörperchenmasse freiliegt und von den zu dem Kerne gehörigen Elementen unabhängig sei.

Der Kern der infizierten Zellen ist überhaupt gut erhalten, aber manchmal zeigt er deutliche Karyorrhexis oder es erscheinen noch andere Formveränderungen in den einzelnen der ganzen Kernmasse angehängten Kernportionen wie Trachomkörperchenhaufen. Ich habe den Verdacht,

---

[1] Myaschita, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 46. 1908. Dez. — Di Santo, Arch. f. Augenheilk. Bd. 61. 1908. — Herford, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 47. 1909. März. — Clausen, Congr. Internaz. Oftalmol. Napoli. 1909. Fasc. 2. — Halberstädter, Deutsche med. Wochenschr. 1909.

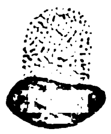


Fig. 1.

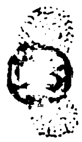


Fig. 2.

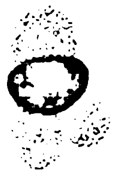


Fig. 3.

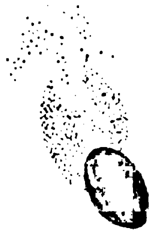


Fig. 4.

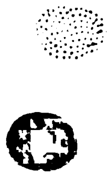


Fig. 5.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

daß dadurch manche ungenaue Beobachtungen über das Aussehen und über die Unspezifizität dieser Körperchen entstanden sind[1]).

Nach dem angewandten Färbungsprozesse bleibt der Kern überhaupt rötlich-violett gefärbt, und sieht man oft in seinem Inneren das Nucleolum mit einer stärkeren blau-violetten Färbung.

Die Ausmessung und die Zahl der Trachomkörperchenmassen sind verschieden, weil man ein, zwei oder drei an der Kernseite finden kann (Fig. 1, 2, 3); ihre Stellung ist auch unbeständig, weil sie bald nahe beim Kern, bald entfernt von demselben liegen können (Fig. 5).

Die Zahl der Körperchen enthaltenden Zellen ist bei den einzelnen Präparaten unbeständig. bei einem sind diese Zellen sehr spärlich (2 oder 3), bei einem anderen sind sie zahlreicher und manchmal bei typischen und frischen Fällen sehr reichlich.

Was aber für die genaue Auslegung der Präparate von Bedeutung ist, das ist, daß die echten Trachomkörperchen mit Giemsas Flüssigkeit eine echte blaue Farbe annehmen, welche einem geübten Auge erlaubt, sie sogleich zu erkennen.

Die Massen, welche, wie ich schon gesagt habe, verschiedene Größe haben können, sind überhaupt oval oder halbmondförmig: Sie zeigen sich von einem Umkreise umgeben, der hier und da unterbrochen ist, so daß er den Austritt der granulösen Gebilde erlaubt (Fig. 4).

Die granulösen Gebilde haben immer gleichförmige Größe: Bald sind sie so verklumpt, daß man sie kaum unterscheiden kann, bald sind sie eins vom anderen ein wenig entfernt, aber mit gleichen Zwischenräumen, so daß sie eine Masse bilden, welche man mit einer großen Staphylokokkentraube vergleichen kann.

Die Trachomkörperchenmassen wurden von uns fast ausschließlich beim frischen und der Kur nicht unterworfenen Trachom gefunden; sehr selten bei den Conjunctivalepithelien des frischen, aber behandelten Trachoms; niemals beim alten oder exazerbierten Trachom, nicht einmal bei jungen oder erwachsenen Personen, bei denen die Epithelzellen der Conjunctiva Karyorrhexis und protoplasmatische granulöse Degeneration aufweisen können, welche absolut nicht spezifisch ist.

Das stimmt genau mit den von Clausen auf dem Internationalen ophthalmologischen Kongreß in Neapel (April 1909) mitgeteilten Beobachtungen überein.

In Hinsicht auf die von Greeff und Di Santo ausdrücklich erkannte und von anderen Beobachtern vermißte Anwesenheit der Trachomkörperchen in den Bindegewebszellen und in den Knoten der Conjunctiva werde ich bald unter Mitwirkung des Herrn Prof. Gallenga auf Grund von fleißigen in dieser Klinik neuerdings gemachten Untersuchungen, Mitteilung machen.

3. Juni 1909.

---

[1]) Zu diesem Vorsatz komme ich nach der beziehungsweise längeren gebrauchten Zeit, was man nach meiner Meinung als Trachomkörperchen erklären soll, zu erkennen und vom Gebilde, welches man bei den Epithelzellen der Conjunctiva finden kann.

Nachdruck verboten.

Notes de parasitologie et de technique parasitologique.

[Institut d'Hygiène expérimentale et de Parasitologie de l'Université de Lausanne.]

Par **B. Galli-Valerio.**

Avec 3 figures.

a) Notes de parasitologie.

1. Contribution à l'étude de la distribution géographique de quelques parasites[1].

1) Haematopinus stenopsis Burm. Chèvre. Pichon (Tunisie. Dr. Santschi). Suivant les renseignements du Dr. Santschi, les chèvres parasitées présentaient une mortalité de 25 %. Il n'est pas possible de dire si les animaux étaient atteints d'une autre maladie et si la présence de l'Haematopinus était une pure coincidence ou si par hasard H. stenopsis inocule aux chèvres de Tunisie une affection à protozoaires.

2) Sarcopsylla penetrans L. Pieds de l'homme. Ngômô s/l'Ogooué (Congo français. Sept. Oct. 1904. Mr. Pelot).

3) Tanypus nebulosus Meig. Homme. Villeneuve (Canton de Vaud. Juin 1908. Mme Rochaz).

Il s'agit d'une ♀ qui s'était posée sur la main et avait piqué.

4) Culicoides pulicaris Linn. Homme. Montcherand (Canton de Vaud. 15 Mai 1909. Dr. Galli-Valerio). A l'endroit indiqué, en plein jour (soleil) j'ai été attaqué par de nombreuses ♀ de cette espèce, dans un bois marécageux. On les voit à peine arriver, comme de petits points gris. Une fois posées, leurs ailes fermées semblent striées transversalement de noir à cause de la présence de taches brunes. Elles piquent immédiatement après s'être posées. La piqûre est excessivement douloureuse, plus douloureuses que la piqûre des Culicides; elle est suivie d'une tache rouge d'un diamètre de 3 mm qui persiste 24 heures et plus, accompagnée de démangeaisons. C. pulicaris est difficile à capturer vivant, car il se déplace et s'envole avec une rapidité extraordinaire, passant d'un endroit à l'autre de la surface du corps comme s'il sautait. J'ai constaté qu'il se porte sourtout sur les habits gris plutôt que sur les clairs: Moi habillé de gris foncé j'en étais couvert et fortement piqué, tandis qu'une autre personne habillée de clair ne l'était pas.

J'attire l'attention sur ces 2 Chironomidae qui pourraient peut-être jouer un rôle pathogène analogue à celui joué par Ph. papatasii Scop.

5) Stegomyia fasciata Fabr. Homme. Mazagan (Maroc, été 1905. Dr. Narbel). Kairouan (Tunisie, été 1908. Dr. Santschi). Mr. le Dr. Santschi m'écrivait: „Ce moustique a fait cette année son apparition en masse à Kairouan, et il pique de jour, les ♂ aussi.“ Cette observation concorde absolument avec celle de Ficalbi[2], qui le premier a signalé que St. fasciata est espèce diurne et que les ♂ ne piquent pas moins que les ♀.

---

[1] Pour la classification de plusieurs de ces parasites, je suis redevable à mes collègues MM. les Prof. Bezzi (Diptères), Neumann (Ixodinés), Railliet (Helminthes), que je remercie vivement ici.

[2] Venti specie di zanzare italiane. Firenze 1899. p. 159.

6) Cyclopodia Sykesii Westw. Collocalia sp. Na Houli (Ceylan 1. II. 07. Dr. Narbel). Pteropus edulis. (Ceylan I. I. 07. Dr. Popoff.)

7) Myiophteria reduvioides Rond. Pteropus edulis. Gintota (Ceylan. 1907. Dr. Narbel).

Bien que le Dr. Narbel m'ait affirmé qu'il n'y a pas eu de confusion pendant le voyage, entre les éprouvettes contenant les 2 espèces (6 et 7), suivant le Prof. Bezzi, il est au contraire fort probable que cette confusion soit arrivée et que le No. 6 ait été trouvé aussi par le Dr. Narbel sur Pt. edulis, tandis que le No. 7 l'aurait été sur Collocalia sp.

8) Haemaphysalis Neumanni Dönitz. Canis aureus. (Ceylan. 1907. Dr. Narbel.)

9) H. parmata Nn. Singe sp. Sumatra. 1907. (Dr. Narbel.)

10) H. parva Nn.? Ceylan 1907. (Dr. Narbel.)

11) H. Leachi Aud. Homme. Durban (Natal. 1908. Miss Fountaine).

12) Amblyomma maculatum Koch. Chien. Paranà (Brésil. 1902. Dr. Rebsamen).

13) A. striatum Koch. Chien. Idem. Idem.

14) A. haebreum splendidum Gieb. Bovidés. Ngômô s/l'Ogooué (Congo français Mr. Pelot).

15) A. fossum Nn. Chien. Paranà (Brésil. 1902. Dr. Rebsamen).

16) A. cyprium Koch et Nn.? Sumatra. 1907. (Dr. Narbel.)

17) A. dissimile Koch (?). Homme. Colombie. (Dr. Santschi.)

18) A. integrum Karsch. (?) Ceylan. 1907. (Dr. Narbel.)

19) A. variegatum Fabr. Homme. Durban (Natal. 1908. Miss Fountaine).

20) Rhipicephalus cuneatus Nn. Bovidés. Ngômô s/l'Ogooué (Congo français. 1907. Mr. Pelot).

21) Rh. simus Koch. Homme. Durban (Natal. 1908. Miss Fountaine).

22) Aponomma Gervaisi Lucas. Varanus salvator. Ceylan. 1907. (Dr. Narbel.)

23) Hyalomma aegyptium L. Chien. Paranà (Brésil. 1902. Dr. Rebsamen). (?) Kairouan (Tunisie. Dr. Santschi). Testudo mauritanica. Kairouan (Tunisie. 1903. Dr. Santschi). Renard sp. Mazagan (Maroc. 1905. Dr. Narbel).

24) Ixodes eudyptidis Maskell. Phalacrocorax graculus. Iles Chauvy. (Manche. Mr. Engel.)

25) I. pilotus Koch. Homme. Durban (Natal. 1908. Miss Fountaine).

26) Margaropus annulatus Say. Homme et bovidés. Colombie. (Dr. Santschi.)

27) Porocephalus sp. (Larves). Singe (Macacus?). Sumatra. 1907. (Dr. Narbel.)

Nombreuses larves cylindroïdes de cm. 1,2 de long, formées par 36 anneaux. Les anneaux présentent à la partie ventrale, sur le bord antérieur, une petite échancrure. Elles sont enkystées sur le mésentère et libres dans le péritoine.

28) Haemadipsa ceylanica Moq. Tend. Homme. Ceylan. 1907. (Dr. Narbel.)

29) H. silvestris R. Bl. Homme. Sumatra. 1907. (Dr. Narbel.)

Mr. le Dr. Narbel m'a rapporté que les indigènes se débarrassent de ces sangsues à mesure qu'elles se fixent sur leurs jambes en les touchant avec leur chique de tabac.

30) Echinorhynchus spirula Olfers. Nasua socialis (intestin). S. Paulo (Brésil. 1907. Dr. Carini).

31) Filaria longecirrata v. Linst. Galeopithecus (sous la peau). Sumatra. 1907. (Dr. Narbel.)

32) Filaria incrassata Molin. Nasua socialis (dans le conjonctif sous cutané des régions axillaires et inguinales). S. Paulo (Brésil. 1907. Dr. Carini).

Chez ce même coati le Dr. Carini a trouvé dans le sang des embryons de filaire. Ces embryons, comme j'ai pu le vérifier sur les préparations reçues, ne présentent point de gaine.

33) Oeufs de Trichotrachélidés. Lapin (foie). S. Paulo. 1907. (Dr. Carini.)

Sur les coupes du foie on trouve une grande quantité d'œufs typiques de trichotrachélidés déterminant une lésion analogue à celle que j'ai décrite à Lausanne chez les rats[1]).

34) Dochmius bidens Molin. Nasua socialis (intestin). S. Paulo (Brésil 1907. Dr. Carini).

35) Oxyuris coronata v. Linst. Galeopithecus sp. Sumatra. 1907. (Dr. Narbel.)

36) Oxysoma brevicaudatum Zed. Bufo vulgaris (intestin). Sondrio (Valteline. Dr. Galli-Valerio).

37) Heterakis perspicillum Rud. Poule (intestin). S. Paulo (Brésil 1907. Mr. Bothelo).

38) Heterakis distans Rud. Hapale midas (intestin). Rio Janeiro (Brésil. 1907. Dr. Carini).

39) Angiostomum nigrorenosum Rud. Leptodactylus ocellatus (poumons). S. Paulo (Brésil. 1907. Dr. Carini).

40) Pleorchis cygnoïdes Zeder. Leptodactylus ocellatus. Plusieurs exemplaires fixés à la vessie urinaire. S. Paulo (Brésil. 1907. Dr. Carini).

41) Ligula reptans Dies. Nasua socialis (conjonctif sous-cutané). S. Paulo (Brésil. 1907. Dr. Carini).

42) Davainea urogalli Modeer. Perdrix rouge (sp.?). Kairouan (Tunisie 1907. Dr. Santschi).

43) Dipylidium caninum L. Chien (intestin). S. Paulo (Brésil. 1907. Dr. Carini).

44) Ctenotaenia pectinata Goeze. Lepus variabilis (intestin). Ormonts (Canton de Vaud. Sept. 1908. Dr. Narbel).

Exemplaires de cm. 10 × 1 et un petit exemplaire long de cm. $1^1/_2$, large au milieu 4 mm. formé par 77 anneaux.

45) Hymenolepis diminuta Rud. Mus decumanus. S. Paulo (Brésil. 1907. Dr. Carini).

Cette espèce est très fréquente à Lausanne chez Mus rattus et M. decumanus. Les œufs de cette espèce se conservent vivants longtemps dans l'eau à 18°—20°, j'en ai gardés vivants de 1 à 2 mois $^1/_2$. Au contraire H. murina est rare à Lausanne où je l'ai trouvée 2 fois chez M. rattus. Dans un de ces cas, j'ai trouvé aussi une petit nodosité blanchâtre de la muqueuse de l'intestin contenant une forme cysticercoïde que je rapporte très probablement à H. murina.

---

[1]) Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. Orig. Bd. 35. 1903. p. 81 et Abt. I. Orig. Bd. 39. 1905. p. 230.

46) Taenia crassicollis Rud. Chat (intestin). S. Paulo (Brésil 1907. Dr. Carini).

47) Caenurus serialis P. Gervais. Lapin (Muscles de la cuisse). Lausanne 15 XII. 08. (Mr. Jaquet.)

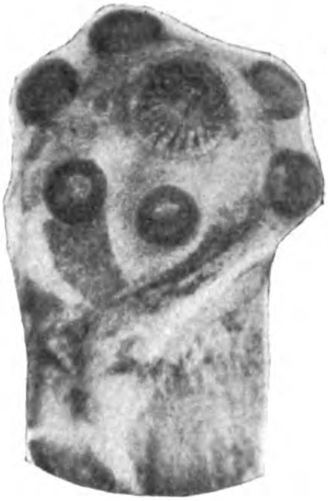


Fig. 1.

C'est la première fois que je trouve à Lausanne ce parasite non cité par Zschokke[1]) dans sa liste des vers parasites observés en Suisse. Ce lapin était nourri avec de l'herbe récoltée le long d'un chemin où il y avait beaucoup de chiens. Examinant les têtes du kyste, j'ai trouvé un exemplaire à 6 ventouses (fig. 1). J'ai profité de l'occasion pour faire sur moi-même un essai d'infection avec les têtes qui étaient vivantes. J'ai avalé 2 de ces têtes, mais sans éprouver aucun trouble et sans être infecté.

48) Opalina ranarum Purk. et Val. Bufo vulgaris (intestin). Sondrio (Valteline 1908. Dr. Galli-Valerio).

49) Aspergillus fumigatus. Femme (crachats). Morges (Canton de Vaud. Nov. 06. Dr. B. Galli-Valerio).

J'ai trouvé ce parasite dans les crachats d'une femme atteinte de broncho-pneumonie, crachats qui m'avaient été envoyés par M. le Dr. Gagnebin. Ni des poussières d'un moulin ni de l'air à Lausanne,' je n'ai jamais isolé Asp. fumigatus, tandis que d'autres aspergilles, tels qu'Asp. glaucus et Asp. niger y sont fréquents.

2. Sur les corpuscules du trachome. Dans une communication faite le 17 Juin 1907 à la Société vaudoise des Sciences naturelles[2]), je signalais le fait que dans des coupes que javais faites avec des granulations de trachome, qui m'avaient été fournies par Mr. le Dr. Cuénod à Tunis, coupes colorées à l'hématoxyline de Böhmer et au Romanovsky, j'avais trouvé de petits corpuscules arrondis, fortement colorés surtout par l'hématoxyline, sur la nature desquels je ne pouvais pas me prononcer. Ma communication avait déjà parvue quand j'ai eu connaissance des travaux de Greeff et Clausen[3]) et d'Halberstädter et Prowazek[4]) sur des corpuscules ronds, petits, trouvés par ces observateurs dans les lésions du trachome. Comme on pourra s'en convaincre en examinant les dessins ci-joints (fig. 2) que j'avais faits à l'époque indiquée, les corpuscules que j'avais observés correspondent bien à ceux décrits à mon insu par ces observateurs, et mes observations de 1907

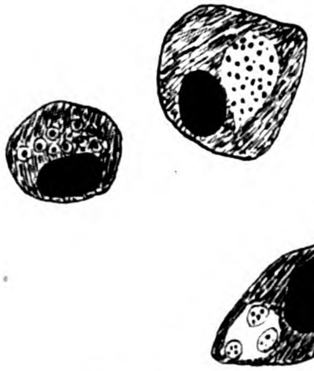


Fig. 2. 1:1500.

---

[1]) Studer, Fauna helvetica. Fasc. IV. 6. Zschokke, Parasitische Würmer. Bern 1902.

[2]) Bulletin de la Soc. vaud. des Sc. nat. Vol. 43. Sér. 5. No. 159. p. 201. Lausanne 1907.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 23 (6 Juin).

[4]) Cité dans Bulletin de l'Institut Pasteur. 1907. p. 674.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

sur le trachome de Tunisie confirment les leurs. Ces corpuscules sont, ou bien disséminés dans la masse du protoplasma sous forme de petits points fortement colorés en violacé (Romanovsky) ou en brun (hématoxyline) et chacun d'eux est entouré d'un espace clair, qui forme comme une auréole. Dans d'autres cellules, au contraire, il sont groupés ensemble dans des espaces clairs, dans lesquels ils se trouvent ou bien disséminés, ou bien groupés en 2—3 amas. Je n'en ai point trouvé en dehors des cellules épithéliales. Les rares coupes que j'ai pu faire, provenaient des jeunes granulations de trachome non encore traité, raclées en ma présence par Mr. le Dr. Cuénod et placées immédiatement dans l'alcool. C'est probablement à cause de ce fait que je suis d'emblée tombé sur ces corpuscules, car comme Greeff observe[1]) ils disparaissent très vite dans les cas de trachome qui ont été soumis au traitement par le crayon de sulfate de cuivre.

3. Sur un protozoaire (Haemogregarina?) trouvé dans le sang d'un coq: Au courant de l'hiver 1908—1909 on m'a envoyé à l'Institut un gros coq Orpington malade depuis plusieurs jours déjà. Il se tenait accroupi sur ses pattes, avait fortement maigri, la crête était cyanosée, les muqueuses exsangues. A l'examen microscopique à frais d'un goutte de sang, j'ai trouvé entre les globules, des corpuscules allongés, avec une extrémité plus grosse que l'autre, très pâles et doués de très légers mouvements. Après fixation du sang et coloration avec la méthode de Leishman, ils apparaissent comme des corps ovoïdes ou ovoïdes prolongés par une partie plus mince, d'une dimension de 15—20 μ. Le protoplasma était coloré en azur pâle et on y notait un ou deux amas de chromatine fortement colorés en rouge. Ils étaient tous extra-cellulaires (fig. 3).

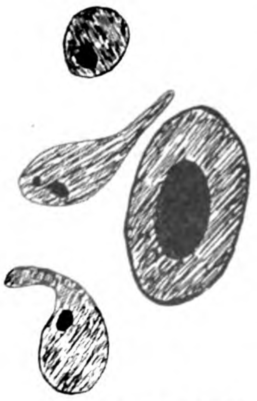


Fig. 3. 1:2250.

Le coq ayant succombé, j'ai recherché les corpuscules dans les coupes du foie et de la rate, mais il m'a été impossible de les mettre en évidence. Des expériences d'inoculation n'ayant malheureusement pu être faites, je ne puis pas dire si les protozoaires (Haemogrégarines?) observés ont été la cause de la maladie et de la mort de l'animal. L'examen microscopique du sang et les cultures ayant montré l'absence de bactéries, je puis exclure le cholera des poules, mais je ne puis au contraire pas exclure que l'animal fut atteint de peste aviaire.

4. Observations sur Strongylus commutatus Diesing.

A l'occasion d'une grave épizootie qui a sévi parmi les lièvres du château de Ripaille (Haute-Savoie) j'ai fait quelques observations sur Strongylus commutatus. Chez des lièvres qui présentaient les lésions de la strongylose pulmonaire, les matières fécales contenaient de très nombreux œufs embryonnés de Strongylus. Or, dans l'intestin de ces lièvres il n'y avait pas de Strongles, mais uniquement des exemplaires de Trichocephalus unguiculatus Rud. Les œufs en question étaient donc bien des œufs embryonnés de St. commutatus, et du reste ils correspondaient complètement aux œufs qui se trouvaient dans les lésions pulmonaires. Ceci confirme les observations de Piana[2])

---

1) Deutsche med. Wochenschr. 1907. p. 517.

2) La Clinica veterinaria. Anno 29. 1906 (Tirage à part).

sur la dissémination des strongyloses pulmonaires des moutons par le passage des embryons dans les matières fécales plutôt que par leur élimination par la bouche ou le nez. La dissémination de la strongylose pulmonaire du lièvre qui fait de si grands ravages dans les parcs, s'opère donc aussi par les matières fécales. Une fois éliminés de l'organisme, les embryons de St. commutatus qui résistent et accomplissent leur mue sont très résistants aux causes de destruction. Le 8 Déc. 1908 j'ai placé en dehors d'une fenêtre un poumon de lièvre infecté. Il a été ainsi exposé à des températures qui sont descendues même à —9°—10°. La surface du poumon était desséchée, mais sur les coupes il y avait encore des parties non desséchées où des embryons étaient encore vivants le 22 Déc. 1908 et le 16. Janv. 1909. Les poumons sont restés toujours sur la fenêtre et le 14 Avril ils étaient transformés en une masse sêche. Je l'ai dissouté en l'écrasant dans l'eau et j'y ai trouvé de très nombreuses larves de Strongle très bien conservées, mais même exposées à la température de 25°—30°—32°, elles n'ont plus présenté de mouvements.

Les embryons de St. commutatus peuvent très bien se cultiver sur plaque d'agar où ils vivent longtemps et présentent une forme d'encapsulement analogue à celle des larves d'Uncinaria.

Très important à noter au point de vue de la strongylose pulmonaire du lièvre est le fait suivant: Des lièvres qui à l'autopsie ne présentaient point de strongles adultes dans les bronches et pas de lésions visibles de strongylose pulmonaire, si on les examinait attentivement, on constatait de toutes petites lésions pulmonaires remplies d'œufs embryonnés et ces mêmes œufs se rencontraient dans les matières fécales. Ces lièvres porteurs d'embryons de Strongles, sans présenter eux-mêmes les symptômes de la maladie peuvent jouer un rôle important dans la dissémination de la strongylose là où elle n'existe pas.

5. Observations sur la biologie et l'action pathogène des Ixodinés: En 1908 j'ai trouvé les premières jeunes tiques (Ixodes ricinus) dans l'herbe du bois de Montchérand (Canton de Vaud) le 16 Mai (temp. de l'air + 17°) et en 1909 le 15 Mai (temp. de l'air + 18°). Le 31 Mai 1908, dans ce même endroit de nombreux ♂ et ♀ se sont portés sur moi et sur un chien. J'ai placé des exemplaires accouplés, mais n'ayant pas encore vraisemblablement sucé de sang des mammifères, dans un bocal avec de la terre et des cerises. Ils se tenaient tout le temps sur ces cerises, mais sont tous morts le 20. VI. sans avoir pondu. Des ♀ qui s'étaient fixées sur le chien le 16 et le 31 Mai se sont détachées toutes seules, complètement repues réciproquement le 23 Mai, et les 6, 7 et 12 Juin. Elles étaient restées fixées 7 à 8 et 13 jours. Ces ♀ ont commencé à pondre 12—15 jours après s'être détachées du chien. Des ♀ prises sur un hérisson ont pondu 10 jours après s'être détachées. Une ♀ d'I. ricinus non complètement repue qui s'était détachée d'un hérisson mort, portée sur ma main s'est immédiatement fixée à un doigt. Tandis que les jeunes femelles pesent 2—3 mg. au moment de la fixation, fecondées et repues elles pesent de gr. 0,30 à gr. 0,335.

Au point de vue de la copulation d'I. ricinus, je confirme complètement les observations de Dönitz[1]) que le ♂ introduit le rostre dans la vulve de la ♀ tandis que les palpes restent en dehors; dans la grande majorité des cas avec sa tête dirigée dans la direction de la tête de la ♀. Le rostre du ♂ n'est pas du tout appliqué contre la base de celui de la ♀, ou enfoncé dans la peau de celle-ci comme l'affirme Bonnet[1]). L'observation de Geer faite en 1775 est donc bien exacte, quoiqu'en pense Bonnet.

---

[1]) Die wirtschaftlich wichtigen Zecken. Leipzig 1907.

Le 1er Juillet 1908, j'ai reçu un hérisson dont le corps était couvert de 200 Ixodes ricinus. Cet animal avait de la peine à se traîner, refusait de manger. Il est mort quelques jours après: il était extrêmement amaigri et les organes étaient exsangues.

Comme j'ai pensé à la possibilité d'une affection transmise par les tiques, j'ai pratiqué des recherches microscopiques sur le sang et sur les organes en vue de la présence d'Haemosporidies: elles ont été toutes négatives. Bien que tout dernièrement Yakimoff[2]) ait observé en Russie une piroplasmiase des hérissons (Piroplasma ninense) qu'il considère transmise par Dermacentor reticulatus, je crois que dans le cas que j'ai observé, le hérisson avait succombé à un état d'anémie et d'épuisement provoqués par les 200 tiques qui s'étaient fixées à la surface de son corps.

6. Observations sur Haematopinus spinulosus Burm. Dans une intéressante communication Manteufel[3]) a démontré que H. spinulosus peut transmettre Spirochaete Obermaieri de rat à rat et il se demande si dans certains cas d'infection à fièvre récurrente de l'homme observés dans les laboratoires, il ne s'agit pas d'une transmission opérée par ce parasite. Il croit la chose très probable parce qu'il dit qu'il a pu constater sur lui-même qu'H. spinulosus peut piquer l'homme.

Ce parasite étant très abondant à Lausanne sur Mus rattus, j'ai fait plusieurs fois sur moi-même et sur d'autres personnes des essais pour vérifier s'il pique l'homme. Ces essais étaient faits en portant un certain nombre d'Haematopinus sur l'avant-bras et en les y laissant tout à fait libres on couverts par un verre de montre. On les suivait soigneusement avec une loupe dans tous leurs mouvements. Bien que ces parasites restassent à jeun pendant 24, 48 heures et jusqu'à 4 jours, ils ont toujours refusé de piquer et ils sont morts après 3—4—5 jours. Jamais je n'ai vu, en faisant l'autopsie de rats qui étaient morts, des Haematopinus se porter sur moi, comme il arrive du contraire toujours avec les mallophages des poules. J'ai aussi essayé d'habituer ces parasites à vivre sur le cobaye, mais il m'a été impossible de les faire vivre et multiplier. De mes nombreuses expériences, je crois pouvoir conclure qu'H. spinulosus ne doit pas représenter un danger bien grand au point de vue de la transmission de Sp. Obermaieri des rats infectés à l'homme, car s'il pique ce dernier, comme Manteufel l'a constaté, il doit le faire dans des cas tout-à-fait exceptionnels.

b) Note de technique parasitologique.

En 1908, Nastioukov[4]) a proposé une nouvelle méthode pour la conservation des pièces anatomiques, qui a pour but de garder leur coloration et en même temps leur consistance normale. Cette méthode consiste à immerger les organes frais pendant 24 heures dans une so-

---

1) Recherches sur l'anatomie comparée et le développement des Ixodidés. Lyon 1907.

2) Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. Ref. Bd. 43, p. 287.

3) Centralbl. f. Bakteriol. etc. Abt. I. Bd. 42. 1908. Beiheft p. 117.

4) Semaine médicale. 1908. p. 393.

lution contenant 2 gr. de créosote de hêtre, 10 gr. d'azotate de potasse, 200 gr de glycérine et 800 gr. d'eau. Après on passe les organes dans de l'huile de vaseline ou de pétrole dans lesquels ils sont conservés. J'ai essayé d'appliquer cette méthode, dans laquelle j'ai remplacé l'huile de vaseline par de l'huile de paraffine, à quelques parasites et à quelques lésions parasitaires et j'en ai obtenu des résultats très bons: Un exemplaire d'Hirudo medicinalis, des estomacs et des fragments de muscles de poissons, contenant des larves de D. latus; des poumons de lièvres à lésions de St. commutatus, un testicule de cobaye présentant vaginalite à B. pyocyaneum, des Argas persicus, ont gardé leur souplesse et leur coloration primitives bien que conservés déjà depuis plus de 6 mois. Ce procédé donc mérite de trouver place en technique parasitologique.

Lausanne, 20 Mai 1909.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Eier von Culex cantans.

Letzte Erwiderung an Dr. Eysell.

Von **B. Galli-Valerio** und **J. Rochaz de Jongh.**

Nur eine kurze Erwiderung auf die Antwort von Dr. Eysell (Centralbl. f. Bakteriol. Orig. Bd. 50. p. 203):

1) Auf die Einwendung, daß Blanchard, die Beschreibung der Eier von Culex gebend, nur von den Eiern von C. pipiens sprechen wollte, antworten wir: a) Blanchard beschreibt die kähnchenförmigen Eiergelege in einem Kapitel, welches den Titel (p. 98) trägt: „Métamorphoses des Culex", nicht aber von C. pipiens. Dies ist um so mehr der Fall, als er, von der Gattung Stegomyia (p. 247) schreibend, als Kennzeichen dieser Gattung gibt: „Oeufs ordinairement pondus isolément, non agglutinés en nacelle."

Was Theobald und Giles anbelangt, daß diese „die Opfer der Kritiklosigkeit Meigens" gewesen sind, so geht uns dies nichts an.

Wir wollten nur die Aufmerksamkeit auf die Tatsache lenken, daß in den verbreitetsten Werken über Culiciden der Eiertypus, welchen wir bei C. cantans beschrieben haben, gar nicht erwähnt wird. Unsere Behauptung bleibt somit bestehen.

Wenn die Gattung Mansonia nebst der schon getrennten Gattung Megarrhinus eine von den Culicinen getrennte Subfamilie bilden soll, muß unserer Behauptung, daß auch Culicinen einzelne Eier ablegen, noch größere Wichtigkeit zugesprochen werden.

2) Culex nemorosus, wir wiederholen es, legt seine Eier in Kähnchenform ab. In einem Falle wurde die Diagnose dieser Art nicht nur von uns, sondern auch von Theobald gestellt. Die Tatsache, daß wir von einem an einem dürren Blatt klebenden Ei von C. nemorosus sprachen, welches am Rande einer trocken stehenden Pfütze überwinterte, steht keineswegs in Widerspruch, denn: a) wir wissen nicht mit Gewißheit, ob die Wintereier in gleicher Weise gelegt wurden, wie diejenigen des Sommers; b) wenn die Wintereier auch kähnchenförmig

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

auf dem toten Laub der trocken stehenden Pfützen deponiert werden, so ist es doch begreiflich, daß unter Einwirkung mechanischer Ursachen sie sich leicht voneinander lösen müssen.

3) In seiner ersten Kritik sagt Eysell (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 46. p. 717) von unserer Beschreibung der Eier von C. cantans schreibend: „Nicht ‚Luftkämmerchen‘, wie Galli-Valerio und Rochaz de Jongh annehmen, trennen das Chorion vom Exochorion bei der Stechmücke, welche sich aus syphontragenden Larven entwickeln, sondern eine wasserhelle, schleimige Masse verbindet lückenlos die beiden Häute.“ Aber, da wir schrieben (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 46. p. 130): „Das Ei scheint von einer hellen, buckeligen Haut umgeben zu sein, die hauptsächlich an den Rändern zu sehen ist, wo sie eine Reihe Luftkämmerchen zu bilden scheint, die dem Ei das Schwimmen ermöglichen“, faßten wir den Satz Eysells auf als eine Verneinung des Vorhandenseins der Luftkämmerchen, die als eine „wasserhelle, schleimige Masse usw.“ zu betrachten wäre. Ist dem nicht so, so sind wir bereit, die Unrichtigkeit unserer Auffassung zu bekennen.

4) Daß in Menses Handbuch der Tropenkrankheiten Eysell die Bezeichnung Stegomyia auf Wunsch des Herausgebers gebraucht hat, ist ein guter Beweis, daß, wie wir es behaupteten, diese Gattung allgemein angenommen worden ist.

Lausanne, 12. Juni 1909.

Nachdruck verboten.

Ueber Wirkungen von Salzen auf Bakterien.

[Aus dem k. k. serotherapeutischen Institut in Wien.
(Vorstand: Hofrat Prof. R. Paltauf.)]

Von Dr. **M. v. Eisler.**

Mit 13 Figuren.

Die Beziehungen der Elektrolyten zu den kolloidalen Substanzen, welche die Bausteine der lebenden Substanz bilden, sind so innige, daß das Vorhandensein bestimmter Mengen von Salzen unentbehrlich ist zur Erhaltung des Lebens. Wenn man auch heute noch weit entfernt ist von einer physikalischen Chemie des lebenden Protoplasmas, so haben doch die Fortschritte der Kolloidchemie in den letzten Jahren und ihre Anwendung auf biologische Fragen gelehrt, daß der jeweilige Zustand der das Protoplasma zusammensetzenden Kolloide auch deren Funktionen bedingt, daß Zustandsänderungen dieser Kolloide auch mit Funktionsänderungen einhergehen, und daß der richtige Ablauf aller Zellfunktionen, also das Leben, von einer bestimmten Strukturierung der Plasmakolloide abhängt. Daß die Elektrolyte imstande sind, zu den Plasmakolloiden, namentlich zu den Eiweißkörpern in Beziehung zu treten, haben unter anderen die Versuche von Loeb und seinen Schülern gezeigt.

Den Untersuchungen von Pauli und seinen Mitarbeitern verdanken wir die Kenntnis, daß meßbare physikalische Zustandsänderungen der Eiweißkörper schon bei sehr niederen Konzentrationen der Neutralsalze, die sich noch im Bereiche der physiologisch in Betracht kommenden

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Mengen bewegen, bewirkt werden können. Vor allem muß aber die schon seit längerer Zeit gemachte Beobachtung hervorgehoben werden, daß das Vorhandensein mehrerer bestimmter Elektrolytenarten und ihr gegenseitiges Mengenverhältnis für die Tätigkeit und das Leben der Zelle von größter Bedeutung sind. Es wird notwendig sein, hier auf diese Versuche etwas näher einzugehen.

Die Notwendigkeit der Salze auch für die höheren Tiere, insbesondere des Chlors und des Eisens, ist ja bekannt. Versuche über die Rolle der Salze für das physikalisch-chemische Verhalten der Zellen sind aber bisher an höheren Tieren nicht gemacht worden, weil es ja nicht gelingt, solche Tiere mit einer künstlichen, synthetischen Nahrung am Leben zu erhalten, sondern für solche Untersuchungen wurden niedere Tiere und Pflanzen oder einzelne Zellarten der höheren tierischen Organismen gewählt. In dem Bestreben, eine Flüssigkeit zu finden, welche bei der Durchspülung das Herz möglichst lange in Tätigkeit erhält, hat Ringer an Stelle der bis dahin gebräuchlichen Chlornatriumlösung eine Mischung von NaCl, KCl und $CaCl_2$ gewählt. Diese Mischung erwies sich als besser konservierend als reine Chlornatriumlösung, und nicht nur für das Herz, sondern auch für andere Zellen, wie Skelettmuskeln und Nerven, war ein Gemenge der drei Salze weniger schädlich als NaCl allein. Die Ringersche Lösung enthält auf 100 Mol. NaCl 2 Mol. KCl und 1 bis 2 Mol. $CaCl_2$.

In demselben molekularen Verhältnis kommen die drei Salze auch im Seewasser vor. Herbst hat nun der Reihe nach je einen der drei Bestandteile aus dem Meereswasser entfernt, und gefunden, daß in einem solchen Wasser die Entwickelung der Seeigeleier nicht möglich ist. Loeb konnte dann zeigen, daß die anderen Bestandteile des Seewassers, Mg, SO_4, PO_4, für die Entwickelung der Seeigeleier von geringerer Bedeutung sind und auch fortgelassen werden können, daß aber die drei Salze NaCl, KCl und $CaCl_2$ unbedingt notwendig sind. Dasselbe Ergebnis haben auch Versuche an Medusen und Turbelarien ergeben. Einen Aufschluß über dieses Verhalten lieferten Untersuchungen von Loeb an einem Fisch, Fundulus heteroclitus, und dessen Eiern. Frisch befruchtete Eier dieses Fisches in eine NaCl-Lösung von derselben Konzentration, wie dieses im Meerwasser vorkommt, gebracht, entwickeln sich nicht. Nach Zusatz von etwas $CaCl_2$ können alle Eier Embryonen bilden; wurde auch noch etwas Kalium zugefügt, so konnte auch der junge Fisch in dieser Lösung leben. Von einer bestimmten Konzentration des NaCl an ist die Entwickelung der Eier ausgeschlossen. Das Chlornatrium allein wirkt also giftig. Seetiere, welche nicht in destilliertem Wasser leben können, gehen auch in solchen Lösungen zugrunde, in denen der osmotische Druck des Meerwassers durch andere Stoffe als die drei Salze NaCl, KCl und $CaCl_2$ erzeugt wird. So z. B. geht Gammarus aus der Bai von San Francisco in einer dem Seewasser isotonischen NaCl- oder Rohrzuckerlösung ebenso rasch zugrunde wie in destilliertem Wasser. Wesentlich für Erhaltung des Lebens von Gammarus ist das Mengenverhältnis der drei Salze, wie es im Meerwasser vorkommt. Man kann das Seewasser mit destilliertem Wasser auf das 10-fache verdünnen, ohne daß die Tiere wesentlichen Schaden nehmen, erst bei weiterer Verdünnung findet eine rasche Abnahme der Lebensdauer statt. Andererseits wirkt Kalium und Calcium, die zur Entgiftung des Chlornatriums notwendig sind, in denselben Mengen selbst giftig, wenn die Konzentration des NaCl in der Lösung verringert wird. Also nur ein ganz bestimmtes Mengenverhältnis der drei Salze liefert eine unschädliche Lösung und eine solche ungiftige Mischung wird von **Loeb** als physiologisch äquilibrierte Salzlösung bezeichnet. Sogar für einen im Süßwasser lebenden Krebs, **Gammarus**, konnte **Ostwald** nachweisen, daß dessen Lebensdauer in Seewasser, also einer physiologisch äquilibrierten Salzlösung, am größten ist, und in Lösungen abnimmt, welche nur einzelne Salze des Meerwassers enthalten, da diese für sich allein giftig sind. Ganz ähnliche Verhältnisse fand **Osterhout** sowohl für Pflanzen, die im Meere leben, als auch für Süßwasseralgen. Schließlich wurden auch ähnliche Versuche, welche sich auf die entgiftende Wirkung des Ca-Ions für eine Reihe anderer Ionen beziehen, von **Benecke** an **Spirogyra** gemacht.

Alle diese Versuche haben übereinstimmend gezeigt, daß Mischungen verschiedener Elektrolyten, welche für sich allein zum Teil sehr giftig wirken, in einem bestimmten Mengenverhältnis mehr oder weniger unschädlich sind. **Loeb** sowie **Loeb** und **Gies** haben nun eingehende Versuche an befruchteten Eiern von **Fundulus** angestellt, um festzustellen, in welcher Weise giftig wirkende Salze durch Zusatz eines anderen Elektrolyten entgiftet werden können. Die Wirkung einer $^5/_8$ grammolekularen Chlornatriumlösung konnte schon durch geringe Mengen von Ca-Ionen zum größten Teil aufgehoben werden. Die Menge wächst mit der Konzentration der Chlornatriumlösung, es war aber unmöglich, eine NaCl-Lösung von höherer Konzentration als $^6/_8$ m durch Ca zu entgiften. Aehnlich wie Ca wirkten Mg, Ba und Sr. Ja selbst die an und für sich so giftigen Zink- und Bleisalze waren imstande, die schädliche Wirkung des NaCl bis zu einem gewissen Grade aufzuheben. Auch Salze dreiwertiger Kationen, wie Al und Cr, waren für Chlornatrium antitoxisch, und zwar in noch geringeren Mengen als die zweiwertigen Kationen. Die Entgiftung einer NaCl-Lösung durch andere einwertige Kationen gelang nicht. Der Grund für dieses Verhalten liegt nach **Loeb** darin, daß die einwertigen Kationen erst in hohen Konzentrationen antitoxisch wirken und infolgedessen der osmotische Druck der Lösungen zu hoch wird. Dagegen konnten ebenso wie NaCl-Lösungen auch Lösungen von reinem LiCl und KCl durch $Ca(NO_3)_2$, $BaCl_2$, $SrCl_2$ oder $MgCl_2$ entgiftet werden.

Zweiwertige Salze, welche noch giftiger sind als einwertige, konnten durch ein- und andere zweiwertige Salze entgiftet werden. So war es möglich, die Wirkung einer Calciumsalzlösung durch KCl und NH_4Cl aufzuheben, ebenso die Giftigkeit des $ZnSO_4$ durch NaCl, ferner durch Zusatz von LiCl, KCl und NH_4Cl. Zu diesem Zwecke waren verhältnismäßig große Mengen einwertiger Salze erforderlich.

Von den zweiwertigen Salzen war $ZnSO_4$ antitoxisch für $Ca(NO_3)_2$, ferner $SrCl_2$ für $MgCl_2$; schließlich wirkten $MgCl_2$ und $CaCl_2$ antagonistisch. Speziell der Einfluß des Verhältnisses von Mg und Ca und ihrer antagonistischen Wirkung wurde auf botanischem Gebiete eingehend studiert. Die diesbezüglichen Versuche von **Benecke** wurden bereits erwähnt. v. **Portheim** und **Samec** konnten die Entwickelung von **Phaseolus vulgaris** beeinflussen je nach den Mengen von Calcium und Magnesium, welche den Keimlingen dargeboten wurden. **Loeb** erbrachte auch den Nachweis, daß die antitoxische Wirkung der Salze von den Kationen abhängig ist, den Anionen kommt keine solche Wirkung zu. Denn eine Chlornatriumlösung wird zwar durch kleine Mengen eines Salzes mit zweiwertigem Kation entgiftet, aber nicht durch Salze mit ein- oder zweiwertigem Anion. So verliefen z. B. Versuche mit NaCl-Lösung und Na_2SO_4, K_2SO_4, $NaHCO_3$, $NaHPO_4$ negativ. Meine eigenen Untersuchungen betreffen die Wirkungen verschiedener Salze, und ihre gegenseitige Beeinflussung für Bakterien. Als Maßstab für diese Wirkungen wurde einerseits die Entwickelungshemmung der Bakterien, andererseits der formative Einfluß der Salze herangezogen.

I. Entwickelungshemmung.

Abgesehen von der bakterienvernichtenden Fähigkeit der Schwermetallsalze, unter denen ja besonders das Quecksilberchlorid als Desinficiens einen hervorragenden Platz einnimmt, kommt auch den Salzen der Leichtmetalle eine gewisse keimtötende Wirkung zu. Allerdings wirken diese Salze erst bei höheren Konzentrationen und auch dann erst nur gegen einzelne Bakterienarten. So zeigten die Erfahrungen beim Einpökeln des Fleisches, daß selbst unter dicken Lagen von Natriumchlorid nur Choleravibrionen und sporenfreie Milzbrandbacillen innerhalb 24 Stunden zugrunde gegangen waren, nicht aber Typhus-, Schweinerotlauf- und Tuberkelbacillen, ebensowenig Eiterkokken. v. Lingelsheim hat speziell den Einfluß verschiedener Alkali- und Erdalkalisalze auf Milzbrandbacillen, die in Blutserum suspendiert waren, studiert und gefunden, daß $KClO_3$ in der Verdünnung 1 : 5, NaCl 1 : 12, $CaCl_2$ 1 : 50 abtötend wirkt. Noch wirksamer als das Calciumchlorid war das Lithiumchlorid, das in der Verdünnung 1 : 200 wirkte, und besonders das Lithiumkarbonat bis zur Verdünnung 1 : 2000. Aus diesen Angaben ergab sich die Notwendigkeit, zunächst den Einfluß einer Reihe von Salzen auf verschiedene Bakterien zu untersuchen. Zu diesem Zwecke wurden Bakterienaufschwemmungen durch Verdünnung mit Bouillon hergestellt, so daß schließlich 0,1 ccm Bouillon $^1/_{500000}$ Oese Bakterien enthielt. Diese Bakterienmenge wurde mit abgemessenen Mengen von Normallösungen der Salze gemischt und das Volumen in allen Röhrchen mit Aqua dest. auf 1 ccm aufgefüllt. Die in dieser Weise beschickten Röhrchen wurden $^1/_2$ Stunde bei 36° C gehalten, hierauf der Inhalt in verflüssigten Agar übertragen und Platten gegossen. In diesen Versuchen wurden 0,01—0,2 ccm Normallösung von folgenden Salzen den Bakterien zugesetzt: KCl, K_2SO_4, LiCl, $MgCl_2$, $MgSO_4$, $CaCl_2$, $BaCl_2$. Untersucht wurden in dieser Weise Vibrionen, Staphylokokken und B. subtilis. Bei keiner Konzentration und durch keines der angeführten Salze ließ sich bei dieser Versuchsanordnung eine Wachstumsverhinderung der drei Bakterienarten erzielen. Es wurde daher die Einwirkungszeit der Salze auf die Bakterien länger ausgedehnt. In den folgenden Versuchen blieben die Röhrchen jedesmal 6 Stunden bei 38° C und erst nach dieser Zeit wurde der Inhalt zu Platten verarbeitet. Ein derartiger Versuch mit Vibrio El Tor V und B. subtilis verlief folgendermaßen (s. Versuch I).

0,1 ccm $BaCl_2n$ hemmte also das Wachstum beider Bakterienarten, wahrscheinlich wegen seiner starken Beeinflussung der Plasmakolloide. Vom LiCl genügte 0,1 ccm, um die zugesetzte Menge B. subtilis zu vernichten, während selbst 0,2 ccm LiCln, also die doppelte Menge, bei Vibrio El Tor keine Wachstumsbehinderung hervorbrachte. Möglicherweise beruht dieser Unterschied darauf, daß das LiCl in die Vibrionen viel weniger eindringt als in B. subtilis, weil die Vibrionen nach der Einteilung von Fischer zu den für Salze impermeablen bezw. wenig

Versuch I.

		Resultat nach 24 Std. bei 36° C
$^1/_{500000}$ Oese V. El Tor	+ 0,2 ccm $LiCln$	sehr viele Kolonieen
	+ 0,2 „ $MgCl_2n$	dgl.
	+ 0,2 „ $MgSO_4n$	„
	+ 0,2 „ $KCln$	„
	+ 0,2 „ K_2SO_4n	„
	+ 0,1 „ $CaCl_2n$	„
	+ 0,1 „ $BaCl_2n$	θ
$^1/_{500000}$ Oese B. subtilis	+ 0,05 ccm $LiCln$	viele Kolonieen
	+ 0,1 „ „	θ
	+ 0,1 „ $MgCl_2n$	sehr viele Kolonieen
	+ 0,2 „ „	dgl.
	+ 0,1 „ $MgSO_4n$	„
	+ 0,2 „ „	„
	+ 0,1 „ $KCln$	„
	+ 0,2 „ „	„
	+ 0,1 „ K_2SO_4n	„
	+ 0,2 „ „	„
	+ 0,01 „ $BaCl_2n$	„
	+ 0,05 „ „	wenige Kolonieen
	+ 0,1 „ „	θ
	+ 0,05 „ $CaCl_2n$	sehr viele Kolonieen
	+ 0,1 „ „	dgl.

permeablen, B. subtilis hingegen zu den permeablen Bakterien gerechnet werden.

Nachdem also die Entwickelungshemmung für B. subtilis durch LiCl festgestellt war, habe ich versucht, diese schädigende Wirkung durch Zusatz eines anderen Salzes aufzuheben. Die Versuchsanordnung war dieselbe, wie sie bereits früher beschrieben wurde. Zur Bereitung der Bakterienaufschwemmung verwendete ich jedesmal eine Agarkultur, welche 16—20 Stunden bei 36° C gewachsen war.

Versuch II.

		Resultat nach 24 Std. bei 36° C
$^1/_{500000}$ Oese B. subtilis + 0,1 ccm LiCl		θ
$^1/_{500000}$ Oese B. subtilis + 0,1 ccm LiCl	+ 0,005 ccm $CaCl_2n$	einzelne Kolonieen
	+ 0,01 „ „	ziemlich viele Kolonieen
	+ 0,02 „ „	dgl.
	+ 0,05 „ „	sehr viele Kolonieen
	+ 0,1 „ „	dgl.
	+ 0,2 „ „	θ
	+ 0,001 „ $BaCl_2n$	θ
	+ 0,005 „ „	ziemlich viele Kolonieen
	+ 0,01 „ „	einzelne Kolonieen
	+ 0,02 „ „	dgl.
	+ 0,05 „ „	„

Im nächsten Versuche wurde zum Lithiumchlorid ein Calciumsalz mit einem anderen Anion, nämlich Calciumnitrat, dann Magnesiumsulfat und schließlich ein Salz mit einwertigem Kation, nämlich Kaliumsulfat, zugesetzt.

Versuch III.

		Resultat nach 24 Std. bei 36° C
$^1/_{500000}$ Oese B. subtilis + 0,1 ccm LiCl		θ
$^1/_{500000}$ Oese B. subtilis + 0,1 ccm LiCl	+ 0,01 ccm $Ca(NO_3)_2$	einzelne Kolonieen
	+ 0,02 „ „	viele Kolonieen
	+ 0,05 „ „	dgl.
	+ 0,05 „ K_2SO_4	θ
	+ 0,1 „ „	θ
	+ 0,2 „ „	θ
	+ 0,001 „ $MgSO_4$	θ
	+ 0,002 „ „	θ
	+ 0,005 „ „	mäßige Zahl von Kol.
	+ 0,01 „ „	dgl.
	+ 0,02 „ „	einzelne Kolonieen
	+ 0,05 „ „	θ
	+ 0,1 „ „	θ
	+ 0,2 „ „	θ

In einer anderen Versuchsreihe wurde ein Salz mit zweiwertigem Kation, nämlich Manganosulfat, welches noch in geringen Mengen entwickelungshemmend auf B. subtilis wirkt, mit anderen ein- und zweiwertigen Salzen versetzt.

Versuch IV.

		Resultat nach 24 Std. bei 36° C
$^1/_{500000}$ Oese B. subt. + 0,0015 ccm $MnSO_4$		θ
$^1/_{500000}$ Oese B. subt. + 0,0015 ccm $MnSO_4$	+ 0,0005 ccm $Ca(NO_3)_2$	einzelne Kolonieen
	+ 0,001 „ „	mäßig viele Kolonieen
	+ 0,002 „ „	dgl.
	+ 0,005 „ „	viele Kolonieen
	+ 0,01 „ „	dgl.
	+ 0,02 „ „	„
	+ 0,05 „ „	„
	+ 0,1 „ „	„
	+ 0,005 „ KCl	wenige Kolonieen
	+ 0,01 „ „	Kol. in mäßiger Zahl
	+ 0,02 „ „	dgl.
	+ 0,05 „ „	einzelne Kolonieen
	+ 0,1 „ „	θ

Zu diesen Versuchen wurde jedesmal auch eine Probe mit $^1/_{500000}$ Oese B. subtilis in 1 ccm Aqua dest. ohne jeden Salzzusatz aufgestellt. Die mit dem Inhalt dieser Röhrchen beschickten Agarplatten zeigten reichliches Wachstum. Aus den Versuchen II, III und IV ist zu ersehen, daß der Zusatz von ein- und zweiwertigen Salzen zu einem für sich allein entwickelungshemmenden Salze in einem bestimmten Mengenverhältnis mehr oder weniger gutes Wachstum der Bakterien ermöglicht. In Versuch II und III wurde ein einwertiges Salz, Lithiumchlorid, durch Salze mit zweiwertigem Kation, Ca, Ba und Mg, nicht aber durch das einwertige K_2SO_4 entgiftet. Sowohl das Chlorid wie das Nitrat des Calciums wirkten gleich gut, so daß die Bedeutung der Anionen eine untergeordnete zu sein scheint, weniger gut, wenn auch noch deutlich entgiftend, wirkte das Bariumchlorid und Magnesiumsulfat, das Bariumchlorid wohl deshalb, weil größere Mengen dieses Salzes, bei denen die

Wirkung des LiCl am besten aufgehoben wurde, schon an und für sich schädigend wirken (s. Versuch I). Versuch IV zeigt die antagonistische Wirkung zwei- und einwertiger Salze, Calciumnitrat und Kaliumchlorid gegen ein zweiwertiges Salz, das Manganosulfat. Wir finden also auch bei den Salzwirkungen auf Bakterien dieselben Verhältnisse wieder, wie sie von Loeb u. a. bei verschiedenen tierischen Zellen beobachtet wurden. Es kommt auch bei den Bakterien der überwiegende Einfluß der Kationen und ihrer Wertigkeit zum Vorschein. Es sind weiter größere Mengen eines einwertigen Salzes als eines zweiwertigen zur Entgiftung notwendig. Die antagonistische Wirkung kommt nur bei einem bestimmten Mengenverhältnisse der beiden Salze zum Ausdruck. Es darf übrigens nicht verschwiegen werden, daß nicht alle Versuche ein so deutliches Resultat ergeben, wie die hier wiedergegebenen; diese wurden aus einer großen Reihe ähnlicher Versuche als besonders gelungene ausgewählt. Der weniger gute Ausfall mancher Versuche ist wohl begreiflich, wenn man bedenkt, daß die Entgiftung nur bei einem bestimmten Mengenverhältnis zwischen Bakterien und dem entwickelungshemmenden Salz gelingt. Das richtige Verhältnis zu treffen, glückt aber natürlich nicht immer, denn wenn auch die Menge des Salzes annähernd genau abgemessen werden kann, ist es doch unmöglich, stets die gleiche Quantität Bakterien im Versuche zu verwenden, weil ja die Abmessung nach Oesen eine recht ungenaue ist. Es kommt aber zum Gelingen des Versuches darauf an, ungefähr jene Menge Salz zu den Bakterien zuzusetzen, welche eben genügt, um sicher Wachstum zu verhindern. Wird ein Ueberschuß des Salzes zugesetzt, so gelingt die Entgiftung nicht mehr oder nur in sehr geringem Maße. Es geht nicht an, eine größere Menge des giftigen Salzes durch reichlicheren Zusatz des entgiftenden Salzes unschädlich zu machen. So z. B. gelang es auch Loeb bei seinen Versuchen an Eiern von Fundulus nur eine Natriumchloridlösung bis zu einer Konzentration von $^5/_8$ m durch Calciumsalz zu entgiften, nicht mehr aber eine solche von $^6/_8$ m.

Wie bereits früher ausgeführt wurde, dürfte ein gewisses Mengenverhältnis namentlich der Na-, K- und Ca-Ionen in den Zellen zur Erhaltung eines bestimmten Zustandes der Plasmakolloide, der eben das Leben ermöglicht, notwendig sein. Werden nun die Zellen in eine Lösung eines Salzes gebracht, so wird, vorausgesetzt, daß das betreffende Salz überhaupt in die Zellen eindringen kann, von einer bestimmten Konzentration in der äußeren Lösung an eine Aenderung im Zustande der Plasmakolloide eintreten, welche je nach dem Grade zu Störungen der Zellfunktionen bis zum vollständigen Stillstande derselben, zum Zelltode führen wird. Für die antagonistische Wirkung einzelner Salze zueinander könnte man sich vorstellen, daß das antagonistische Salz eine entgegengesetzte Wirkung auf die Plasmakolloide ausübt als das giftig wirkende. Durch dieses Bestreben Veränderungen der Kolloide der Zelle nach entgegengesetzter Richtung zu erzeugen, würde der für das Leben notwendige Zustand erhalten bleiben. Diese Vorstellung gewinnt an Wahrscheinlichkeit, wenn man, wie aus Versuchen von Loeb hervorgeht, bedenkt, daß das antagonistische Salz in derjenigen Menge, in welcher es entgiftend wirkt, für sich allein schon giftig ist. So z. B. fand Loeb, daß die Menge $ZnSO_4$, welche die Entgiftung einer $^5/_8$ m NaCl-Lösung bewirkt, auf die Eier von Fundulus sehr giftig wirkt, wenn sie allein zum destillierten Wasser zugefügt wird. Andererseits nimmt Loeb zur Erklärung der antitoxischen Salzwirkungen auf das

Ei von Fundulus an, daß es sich bei der Entgiftung um eine Behinderung der Diffusion der schädlichen Salze in das Ei handle, namentlich bei der Entgiftung durch stark giftige Metallionen, wie Ba, Zn, Pb, Al, Cr usw. Die Behinderung der Diffusion bezw. eine Erschwerung des Eindringens der giftig wirkenden Salze dürfte auch in meinen Versuchen für eine Reihe von Kombinationen in Betracht kommen, so namentlich für die Entgiftung durch die Ionen Ba und Ca. Diese Kationen bewirken eine Veränderung des Eiweißes und der Bakterien und schon durch diesen Umstand kann das Eindringen des giftigen Salzes erschwert werden.

Versuche, die Wirkung des Sublimats auf B. subtilis durch ein anderes Salz, z. B. Calciumsalz, aufzuheben, sind mir bisher nicht gelungen. Da die Versuche bei gleichzeitigem Zusatz von Bakterien, Salz und Quecksilberchlorid mißlangen, konnte man daran denken, daß z. B. das Calciumsalz nicht so rasch in die Bakterienzelle eindringen könne wie das Quecksilberchlorid, so daß dieses seine deletäre Wirkung bereits entfaltet hätte, bevor das Calcium zur Geltung kommen könnte. Ich habe daher die Bakterien mit Calcium vorher 6 Stunden lang bei 36° C gehalten und erst dann $^1/_2$ Stunde lang das $HgCl_2$ einwirken lassen, aber auch bei dieser Versuchsanordnung war eine Entgiftung des Quecksilbersalzes nicht möglich.

Außer durch Gegenwart eines anderen Salzes ist es auch gelungen, durch Zusatz von Blutserum die entwickelungshemmende Wirkung eines Salzes aufzuheben. Der folgende Versuch zeigt die Entgiftung von Lithiumchlorid durch Pferdeserum.

Versuch V.

		Resultat nach 24 Std. bei 36° C
$^1/_{500000}$ Oese B. subtilis + 0,1 ccm LiCl		θ
$^1/_{500000}$ Oese B. subtilis + 0,1 ccm LiCl	+ 0,1 ccm Serum	sehr viele Kolonieen
	+ 0,05 „ „	dgl.
	+ 0,02 „ „	„
	+ 0,01 „ „	mäßig viele Kolonieen
	+ 0,005 „ „	θ

Verhältnismäßig geringe Serummengen sind also imstande, die Giftwirkung des Salzes aufzuheben. Nach den Anschauungen von Loeb und seiner Schule sowie von Pauli müssen wir Adsorptionsverbindungen zwischen Salzionen und Eiweiß annehmen. Durch das zugesetzte Serum wird somit ein Teil des Salzes gebunden, und die übrigbleibende Menge genügt nicht mehr, um eine Entwickelungshemmung der Bakterien zu verursachen. Der Mechanismus dieser Entgiftung ist somit ein ganz anderer als für die antagonistische Wirkung zweier Salze aufeinander. Beim Serum handelt es sich tatsächlich um die Bindung des giftig wirkenden Agens, also um eine Art antitoxischer Wirkung, allerdings nur in weiterem Sinne, denn von einer spezifischen Bindung, wie sie bei den Toxinen und Antitoxinen vor sich geht, ist ja natürlich keine Rede.

II. Formveränderungen durch Salze.

Von Hankin und Leumann wurde die Beobachtung gemacht, daß Pestbacillen, 24—48 Stunden bei 37° C auf Agar mit 2,5—3,5-proz. Natriumchlorid gezüchtet, eigentümliche Involutions- und Degenerationsformen bilden. Diese Untersuchungen wurden von Skschivan und von Rosenfeld fortgesetzt. Matzuschita dehnte die Versuche auch auf andere Bakterienarten aus und konnte zeigen, daß nicht nur Pestbakterien und pestähnliche Bakterien auf Kochsalznährböden Formveränderungen aufweisen, sondern auch zahlreiche andere Mikroorganismen. Diese abnormalen Formen waren besonders deutlich bei B. acidi lactici, B. pyocyaneus, Vibrio cholerae und bei B. diphtheriae. Allerdings waren die Formveränderungen bei den genannten Bakterien meist erst bei einem höheren Kochsalzgehalt (7—8 Proz.) ausgesprochen als bei den Pestbacillen. Bei den letzteren wurden von allen Autoren schon bei einem 2,5—3,5-proz. Gehalt des Agars an Natriumchlorid reichliche Involutionsformen beobachtet, so daß diese besondere Disposition der Pestbacillen zur Bildung abnormer Formen als diagnostisches Hilfsmittel empfohlen wurde, so auch von Kessel und Overbeck. Schließlich sei noch auf die ausführlichen Untersuchungen von Maassen verwiesen. In dieser Arbeit wird auch die Frage erörtert, ob die Entstehung der Involutionsformen, wie allgemein angenommen wird, durch ungünstige Lebensverhältnisse bedingt werde und ein Zeichen des Absterbens der Bakterien sei. Im Gegensatze zu dieser Auffassung wird auf die Tatsache hingewiesen, daß die Gestaltsveränderungen unter den beobachteten Bedingungen noch auf der Höhe des Wachstums eintreten und daß sich solche Bakterien in bezug auf Lebensfähigkeit von den normalen Formen nicht unterscheiden.

Von Maassen wurden 56 verschiedene Bakterienarten untersucht. Außer dem Natriumchlorid wurden auch andere Neutralsalze herangezogen, nämlich die Chloride von Lithium, Kalium, Rubidium, Caesium und Ammonium. Unter diesen Chloriden wirkte das Caesium in einer Menge, welche 2,5—3,5-proz. NaCl entsprach, entwickelungshemmend, das Lithiumchlorid führte bei verhältnismäßig gutem Wachstum die stärksten Formveränderungen herbei. Nur die Kokken vertrugen das Lithiumchlorid, ohne mit Gestaltveränderungen zu reagieren. Nur geringe Veränderungen zeigten die Bakterien der Geflügelcholera, der Schweineseuche, die Pseudodiphtheriebacillen, ebenso die meisten sporenbildenden Bakterien. Bei den anderen Bakterienarten, die auf die Gegenwart von Lithiumchlorid im Nährboden mit starken Formveränderungen reagieren, bewirkt dieses Salz eine Vergrößerung des Zellkörpers im Längen- oder Breitendurchmesser, auch in beiden zugleich. Bei höherem Lithiumchloridgehalt bilden die meisten Bakterien kugel- und amöbenartige Formen. Auch Verzweigungen wurden bei vielen Arten beobachtet.

Im allgemeinen waren die Gestaltveränderungen der Bakterien je nach Art und Menge des Salzes verschieden. Wie bereits erwähnt, zeichnete sich besonders das Lithiumchlorid durch einen starken formativen Reiz aus. Von den anderen Salzen der Alkalimetalle bewirkte nur noch das Caesiumchlorid in so geringen Mengen Gestaltveränderungen; diese waren andere als bei Lithiumchlorid. Außer den Salzen der Alkalimetalle wurden auch noch die Chloride des Magnesiums, Baryums, Calciums und Strontiums untersucht. Namentlich Magnesiumchlorid brachte bei einigen untersuchten Bakterien deutliche Formveränderungen hervor. Endlich hat Maassen auch einige Versuche darüber angestellt, ob die formative Wirkung des Lithiumchlorids auf die Bakterien durch die Anwesenheit anderer Neutralsalze beeinflußt wird. Die wenigen nach dieser Richtung ausgeführten Versuche ergaben kein eindeutiges Resultat. Maassen kommt bloß zu dem Schlusse, daß kleine

Mengen gewisser Neutralsalze (Chlorammonium und Chlorcalcium), die für sich allein nicht gestaltgebend waren, die Wirkung des Lithiumchlorids durch ihre Anwesenheit im Nährboden so beeinflußten, daß nunmehr Formen entstanden, die ohne den betreffenden Zusatz nicht auftraten.

In Fortsetzung meiner Versuche über die Entwickelungshemmung der Bakterien durch Salze habe ich auch den formativen Reiz der Neutralsalze studiert. Namentlich war es mein Bestreben, den für so viele biologische Erscheinungen beobachteten Antagonismus der Salzwirkungen auch auf dieses Gebiet auszudehnen.

Zu diesen Versuchen wurden abgewogene Mengen der Salze zu je 10 ccm eines Nährbodens zugesetzt, der außer dem gewöhnlichen Fleischwasser 1-proz. Witte-Pepton und 2-proz. Agar enthielt, mit Natronlauge bis zum Lackmusneutralpunkte versetzt war und dann mit 5 ccm Normal-Sodalösung pro Liter alkalisch gemacht war.

Zur Impfung der Platten wurden immer 24 Stunden alte Kulturen verwendet, welche auf gewöhnlichem Agar mit 0,5-proz. Natriumchlorid gewachsen waren. Von den Salzagarplatten wurden gewöhnlich nach 24-stündigem Aufenthalt bei 36° C Deckglaspräparate angefertigt und mit wässeriger Fuchsinlösung gefärbt.

Die erste Reihe der Beobachtungen bezieht sich auf den Vibrio El Tor V. Untersucht wurden Natriumchlorid, Lithiumchlorid, Magnesiumnitrat und Calciumnitrat. Sämtliche angeführte Salze bewirkten Formveränderungen der Vibrionen und zwar waren die abnormalen Formen bis zu einem gewissen Grade für jedes einzelne der vier Salze charakteristisch. Zunächst sollen die bei den einzelnen Salzen beobachteten Formen beschrieben werden, wie sie bei denjenigen Mengen entstehen, welche gerade deutliche Veränderungen bewirken. Auf einem Agar mit 0,4 g NaCl auf 10 ccm Nährflüssigkeit waren fast alle Vibrionen verdickt, viele keulenförmig angeschwollen, daneben sehr verlängerte spindelförmige Formen, auch einzelne verzweigte und kugelförmige Gebilde. Ein Zusatz von 0,1 g Lithiumchlorid erzeugte etwas verlängerte, hauptsächlich aber verdickte halbmondförmige, kipfelförmige oder trypanosomenartige Formen. Auch ganz vereinzelte große Kugeln sind zu sehen. Wenn der Lithiumgehalt nur um ein geringes höher gemacht wird, so nehmen die Kugelformen bedeutend an Zahl zu, so daß man schon bei 0,15 g Lithium pro 10 ccm Agar lauter kugelige Formen beobachtet. Alle auf Lithiumagar gewachsenen Vibrionen zeichnen sich bei der Färbung mit Fuchsin durch eine intensiv dunkelrote Farbe aus. Mehr oder weniger ausgesprochen wiesen auch die auf anderen Salznährböden gewachsenen Vibrionen intensive Färbung auf. Auf einem Agar mit 0,1 g $Mg(NO_3)_2$ waren unter kürzeren verdickten und keulenförmigen Gebilden besonders lange, entweder mehr gleichmäßig dicke, oder an einem Ende angeschwollene Formen entstanden. Zusatz von 0,1 g $Ca(NO_3)_2$ zu 10 ccm Agar veranlaßte Zunahme der Vibrionen sowohl im Längen- wie im Breitendurchmesser, so daß sich überaus mannigfaltige Formen ergeben. Besonders in die Augen fallen Riesenformen, welche sowohl der Länge als der Dicke nach kolossal zugenommen haben. Durch überwiegende Zunahme des Breitendurchmessers entstehen auch fast kugelförmige Gebilde.

Da also aus diesen Experimenten in Uebereinstimmung mit früheren Untersuchungen von Matzuschita und Maassen hervorging, daß Vibrionen auf Salznährböden Involutionsformen bilden, habe ich versucht, die Grenze festzustellen, bis zu welcher die einzelnen Salze noch imstande sind, Formveränderungen bei Vibrionen zu erzeugen. Die bei einem 4-proz. NaCl-Gehalt des Agars beschriebenen, außerordentlich deutlichen Veränderungen nehmen bei 3-proz. Natriumchlorid schon sehr ab. Man sieht schon viele normale Vibrionen, daneben freilich noch verlängerte und verdickte. Bei 2- und 1-proz. Gehalt des Agars an

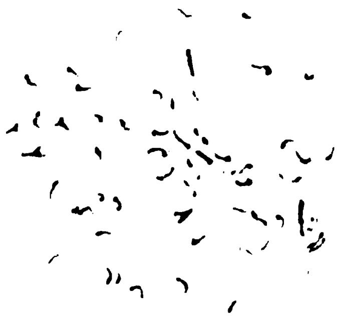


Fig. 1.

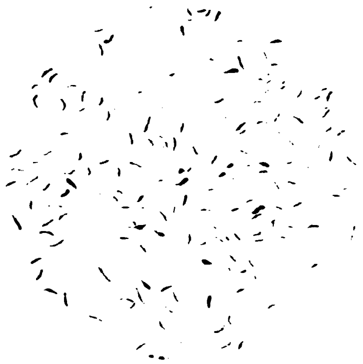


Fig. 2.

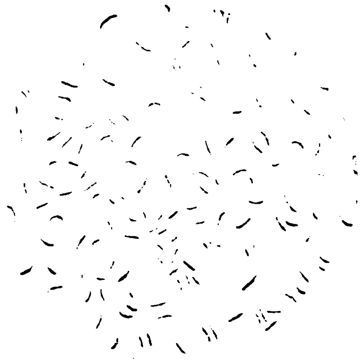


Fig. 3.

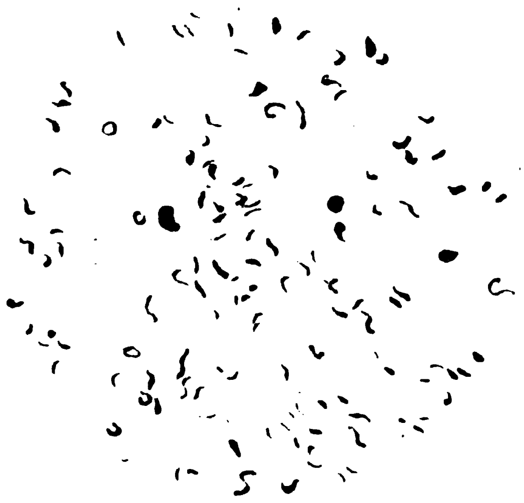


Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Kochsalz sind bereits durchweg Vibrionen von typischem Aussehen gewachsen. 0,05 g Lithiumchlorid in 10 ccm Agar machen noch deutliche Veränderungen, wie sie für Lithium oben beschrieben wurden. Aber schon bei 0,02 g LiCl sind keine Involutionsformen mehr zu sehen. Der Zusatz von 0,05 g $Ca(NO_3)_2$ und $Mg(NO_3)_2$ zum Agar erzeugte noch zahlreiche Involutionsformen, bei 0,02 g waren auch schon genügend normale

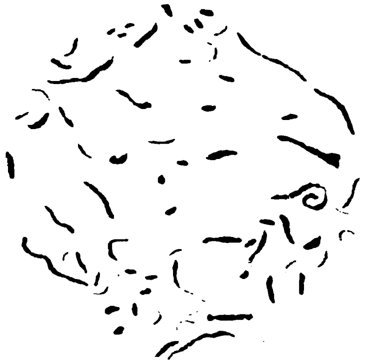


Fig. 8.

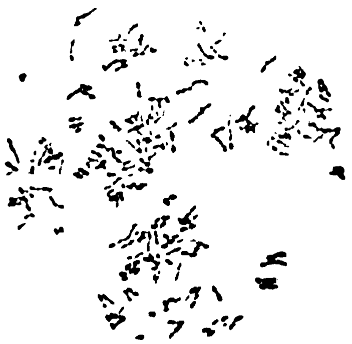


Fig. 10.

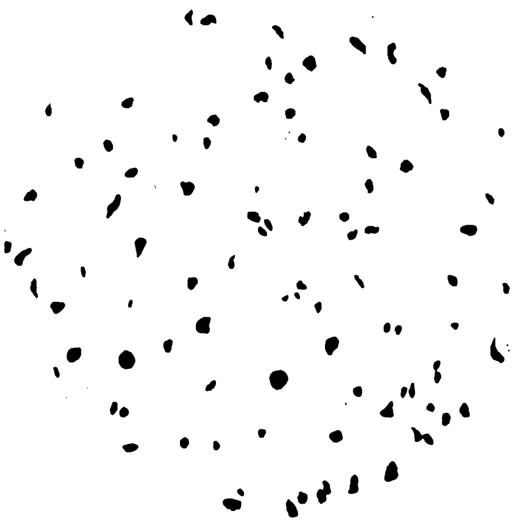


Fig. 9.

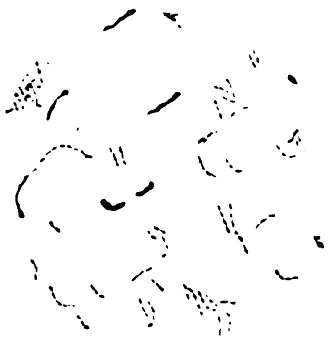


Fig. 11.

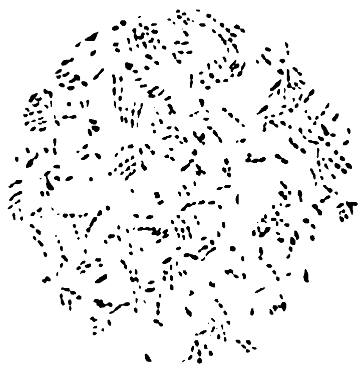


Fig. 12.

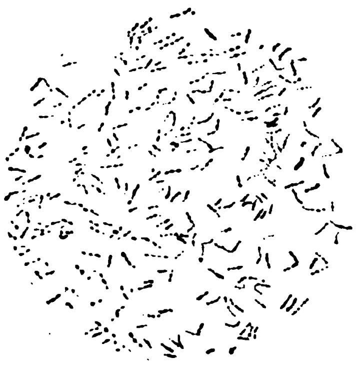


Fig. 13.

Formen zu beobachten, bei 0,01 g der beiden Salze konnten keine oder nur mehr ganz geringfügige Formveränderungen festgestellt werden. Die geringsten Mengen der vier Salze, welche zu 10 ccm Agar zugesetzt eben noch Involutionsformen erzeugen, sind also 0,05 g Lithiumchlorid, 0,3 g Natriumchlorid, 0,02 g Calcium- und Magnesiumnitrat. Diese Gewichtsmengen in Normallösungen der Salze ausgedrückt ergeben für Natriumchlorid eine 5—6-fache Normallösung, für Lithiumchlorid einfach normale Konzentration, für Calcium- und Magnesiumnitrat eine $\frac{n}{6}$-Lösung.

Nach dieser Zusammenstellung scheint es, als ob die Fähigkeit, Formveränderungen zu erzeugen, mit der Wertigkeit der Kationen der Salze zusammenhängen würde.

Die stärkste Konzentration ist für das einwertige Natriumchlorid erforderlich. Das Lithium, welches durch die Schwerlöslichkeit seines Karbonates und Phosphates in Wasser ein Verbindungsglied der Alkalien und Erdalkalimetalle bildet, wirkt bereits bei wenigstens 5-fach geringerer Konzentration als das Natriumchlorid formativ. Noch stärker ist schließlich der formgebende Einfluß der zweiwertigen Kationen Magnesium und Calcium.

Der Einfluß der Anionen scheint für die Erzeugung von Involutionsformen bei Vibrionen von geringer Bedeutung zu sein. Versuche mit dem Chlorid, Nitrat und Sulfat des Magnesiums, Salze, deren Molekulargewicht nicht allzu verschieden ist, und von denen daher gleiche Gewichtsmengen untereinander vergleichbar sind, haben keine wesentlichen Unterschiede erkennen lassen.

Bemerkenswert ist es, daß auch bei den Kulturen, in denen sehr ausgesprochene Formveränderungen der einzelnen Individuen zu sehen waren, niemals eine Abweichung in der Kolonieenbildung gegenüber auf normalem Agar gewachsenen Kulturen zur Beobachtung kam.

Schließlich sei noch erwähnt, daß dieselben Gestaltsveränderungen durch Magnesiumnitrat auch dann zu beobachten waren, wenn die Platten statt bei 36° C bei 22° C gehalten wurden.

Die weiteren Versuche sollen entscheiden, ob es möglich ist, durch Zusatz eines Salzes zu einem anderen formverändernden wieder normale Formen zu erzielen. Diese Versuche wurden in der gleichen Weise gemacht, wie die über den formverändernden Einfluß der Salze, nur daß zum Agar eine Kombination zweier Salze zugesetzt wurde. Natürlich wurde in jedem derartigen Versuch als Kontrolle auch die Wirkung des einen Salzes allein untersucht. Da die Formveränderungen durch die einzelnen Salze bereits eingehend beschrieben worden sind, soll der Kürze halber in den folgenden Versuchsprotokollen nicht näher auf die Art der Veränderungen eingegangen werden, sondern bloß angeführt werden, ob Involutions- oder normale Formen gefunden wurden.

Versuch I.

Salzgehalt von 10 ccm Agar	**Präparat**
0,3 g NaCl	Involutionsformen und normale
0,3 g NaCl + 0,05 g $Ca(NO_3)_2$	normal
0,3 g NaCl + 0,1 g $Ca(NO_3)_2$	Involutionsformen und normale
0,4 g NaCl	sehr viele Involutionsformen
0,4 g NaCl + 0,05 g $Ca(NO_3)_2$	vereinzelte Involutionsformen
0,4 g NaCl + 0,1 g $Ca(NO_3)_2$	normal

Es kommt also ein deutlicher Antagonismus zwischen NaCl und $Ca(NO_3)_2$ zum Ausdrucke, welcher bei einem bestimmten Verhältnis der beiden Salze zueinander am deutlichsten ist. 0,3 g NaCl werden durch 0,05 g $Ca(NO_3)_2$ in ihrer Wirkung aufgehoben, bei Zusatz von 0,1 g $Ca(NO_3)_2$ zu 0,3 g NaCl überwiegt schon der Einfluß des Calciums, so daß bereits wieder abnormale Formen gebildet werden. Bei Anwendung einer größeren NaCl-Menge (0,4 g) sind auch größere Mengen Calcium zur Erzielung normalen Wachstums notwendig.

Der folgende Versuch zeigt die gegenseitige Wirkung von Lithiumchlorid mit Calcium- und Magnesiumnitrat.

Versuch II.

Salzgehalt von 10 ccm Agar	Präparat
0,1 g LiCl	Sehr viele Involutionsformen
0,1 g LiCl + 0,05 g $Ca(NO_3)_2$	viele normale, daneben Involutionsformen
0,1 g LiCl + 0,1 g $Ca(NO_3)_2$	normal
0,1 g $Ca(NO_3)_2$	viele Involutionsformen
0,1 g LiCl + 0,05 g $Mg(NO_3)_2$	normal
0,1 g LiCl + 0,1 g $Mg(NO_3)_2$	normal
0,1 g $Mg(NO_3)_2$	viele Involutionsformen

Also wieder wurde bei einem gewissen Verhältnis zweier Salze normales Wachstum erzielt, wobei zu bemerken ist, daß die Menge desjenigen Salzes, das ein anderes paralysiert, für sich allein gestaltverändernd wird.

Im folgenden Versuche wurde Lithiumchlorid mit mehreren anderen einwertigen Salzen dem Agar zugesetzt.

Versuch III.

Salzgehalt des Agars	Präparat
0,1 g LiCl	Zahlreiche Involutionsformen
0,1 g LiCl + 0,1 g NaCl	dgl.
+ 0,2 g NaCl	"
+ 0,3 g NaCl	"
+ 0,1 g $NaNO_3$	"
+ 0,2 g $NaNO_3$	"
+ 0,3 g $NaNO_3$	"
+ 0,1 g KNO_3	"
+ 0,2 g KNO_3	"
+ 0,3 g KNO_3	"

Zu diesem Versuche ist zu bemerken, daß alle Präparate nahezu das gleiche Aussehen hatten, ungefähr so wie es bei Zusatz des Lithiumchlorids allein beobachtet wurde. Bei Zusatz noch größerer Mengen (0,4 ccm) der einwertigen Salze zu 0,1 g Lithiumchlorid wuchsen die Vibrionen überhaupt nicht mehr, schlechteres Wachstum fand schon in den Platten mit 0,1 g LiCl + 0,2 g der betreffenden einwertigen Salze, besonders des NaCl statt.

Der nächste Versuch dieser Reihe zeigt die antagonistische Wirkung eines einwertigen Salzes, des Natriumchlorids, auf das zweiwertige Magnesiumnitrat.

Versuch IV.

Salzgehalt des Agars	Präparat
0,05 g $Mg(NO_3)_2$	deutliche Involutionsformen und auch normale
0,05 g $Mg(NO_3)_2$ + 0,1 g NaCl	einzelne Involutionsformen, sehr viele normale
+ 0,2 g NaCl	normal
+ 0,4 g NaCl	Involutionsformen und normale

Eine bestimmte Menge des NaCl war also geeignet, die Wirkung des Magnesiums aufzuheben; wurde über diese Grenze hinausgegangen, so machten sich bereits gestaltverändernde Einflüsse des Natriumchlorids geltend.

Schließlich noch ein Versuch über die Wirkung der beiden zweiwertigen Salze Calcium und Magnesium, wenn sie gleichzeitig im Nähragar vorhanden sind.

Versuch V.

Salzgehalt des Agars	Präparat
0,1 g $Mg(NO_3)_2$	zahlreiche Involutionsformen
0,1 g $Mg(NO_3)_2$ +0,02 g $Ca(NO_3)_2$	wenige Involutionsformen, viele normale
+0,05 g $Ca(NO_3)_2$	normal
+0,1 g $Ca(NO_3)_2$	normal

Wenn wir die angeführten Versuche überblicken, so zeigt sich, daß die Wirkung einwertiger Salze, des Natrium- und Lithiumchlorids, durch Salze mit zweiwertigem Kation aufgehoben wird (Versuch I und II), nicht aber durch andere einwertige Salze (Versuch III). Wohl aber konnten einwertige Salze antagonistisch wirken auf zweiwertige und zwei Salze mit zweiwertigem Kation, nämlich Magnesium und Calcium, sich in ihrer Wirkung aufheben.

Der Antagonismus zwischen Ca und Mg wurde namentlich durch Versuche an Pflanzenzellen zur Anschauung gebracht. Die bereits an anderer Stelle erwähnten Untersuchungen von v. Portheim und Samec haben speziell den Einfluß dieser beiden Salze auf das Wachstum und das Aussehen von Phaseolus-Keimlingen festgestellt. Die in einer Lösung von Magnesiumnitrat gezogenen Keimlinge erkrankten. Sie blieben im Längenwachstum zurück, die Wurzeln waren ganz kurz, stark gebräunt, viele faulten. Am Hypo- und Epikotyl traten braune Flecke auf. Wurde den Pflanzen außer salpetersaurer Magnesia auch Calciumnitrat zugesetzt, so nahmen die Krankheitserscheinungen bezw. die Entwickelungshemmung mit steigendem Calciumgehalt ab. War das Verhältnis von Ca zu Mg = 0,69, waren einige Keimlinge im Wachstum ganz zurückgeblieben, andere hatten sich schön entwickelt; war $\frac{Ca}{Mg} = 1{,}39$, so waren die Keimlinge zunächst besser gewachsen als in einer reinen Kalklösung, später blieben sie aber zurück. Wenn der Quotient zwischen Ca und Mg 2,78 war, standen die Pflanzen am besten.

Im übrigen haben sich bei meinen Versuchen dieselben Beziehungen bezüglich des Antagonismus der einzelnen Zonen und ihrer Wertigkeit herausgestellt, wie sie von Loeb sowie Loeb und Gies an den Eiern von Fundulus für die Giftwirkung und Entgiftung durch Salze beobachtet wurden.

Gleichartige Versuche, wie sie eben für Vibrionen beschrieben wurden, habe ich auch an Diphtheriebacillen angestellt. Zu diesen Versuchen ist zunächst zu bemerken, daß das Auftreten von Involutionsformen bei Diphtheriebacillen, wenigstens für die beiden von mir untersuchten Stämme, an beträchtlich höhere Salzkonzentrationen gebunden ist, als sie für die Vibrionen erforderlich sind. So brachten 0,3 und 0,4 g NaCl auf 10 ccm Agar noch gar keine Formveränderungen hervor, ebensowenig 0,05 und 0,1 g LiCl. Erst bei einem Zusatz von 0,6 g NaCl oder 0,2—0,3 g LiCl zum Agar waren abnormale Formen zu sehen. Besonders auf der Platte mit 0,6 g NaCl waren fast ausschließlich sehr stark verdickte, verkürzte, fast ovale Stäbchen gewachsen, welche auch alle sehr intensiv dunkelrot gefärbt waren. Aehnlich, wenn auch weniger ausgesprochen, waren die Veränderungen bei einem Gehalt des Nähragars von 0,2—0,3 g LiCl. Auch durch das zweiwertige Magnesium konnten erst in höheren Konzentrationen Involutionsformen erhalten werden. Bei Zusatz von 0,1 g $Mg(NO_3)_2$ zu 10 ccm Agar wuchsen noch normale Formen. Erst bei 0,2 g $Mg(NO_3)_2$ waren vom normalen Typus abweichende Individuen zu sehen, und zwar kurze, häufig an einem Ende zugespitzte Stäbchen. Auch aus den Versuchen von **Maassen** geht hervor, daß er für Diphtheriebacillen größere Salzmengen zur Erzielung von Involutionsformen — z. B. von Lithiumchlorid 2,2 Proz. — bedurfte als bei Vibrionen.

Versuche, die ich gemacht habe, auch bei Diphtheriebacillen den formverändernden Einfluß eines Salzes durch Zusatz eines anderen aufzuheben, sind in keiner Kombination und Konzentration gelungen. Höchstens waren bei einem bestimmten Mengenverhältnis von Magnesiumnitrat zu Calciumnitrat, nämlich 0,2 g : 0,05 g, Bacillen gewachsen, die sich insofern dem normalen Aussehen etwas näherten, als sie etwas schlanker waren, als die auf Magnesium allein gewachsenen. Immerhin konnten sie bezüglich ihres Längen- und namentlich des Breitendurchmessers nicht als normal bezeichnet werden.

Der Grund für das Mißlingen dieser Versuche im Gegensatze zu dem bei Vibrionen außerordentlich deutlich eintretenden Antagonismus liegt voraussichtlich darin, daß zur Erzeugung von Involutionsformen bei Diphtheriebacillen Salzmengen erforderlich waren, welche durch Zusatz eines anderen Elektrolyten in ihrer Wirkung nicht mehr aufgehoben werden können.

Wie bereits früher erwähnt wurde, ist es auch **Loeb** in den Versuchen an Eiern von **Fundulus** nur gelungen, durch Calcium eine Natriumchloridlösung bis $^5/_8$ m zu entgiften, nicht mehr eine solche von $^6/_8$ m. Wenn aber 10 ccm Agar 0,6 g NaCl enthalten, so entspricht dies schon einer mehr als einfach normalen Lösung. Außerdem muß noch berücksichtigt werden, daß durch den Zusatz einer größeren Menge des zweiten Salzes, das zur Entgiftung nötig wäre, der osmotische Druck im Nährboden schon recht hohe Werte erreicht. Da ja zur Erzeugung von Involutionsformen für Diphtheriebacillen viel höhere Salzkonzentrationen erforderlich sind als bei Vibrionen, wäre es schließlich auch möglich, daß diese verschiedene Beschaffenheit des Bakterienplasmas mit dazu beitragen könnte, das abweichende Verhalten der beiden Bakterienarten bezüglich des Salzantagonismus zu bedingen. Jedenfalls aber liefern die Versuche an Vibrionen eine weitere Ergänzung zu dem von **Loeb** und seinen Schülern zuerst an tierischen Zellen beobachteten Antagonismus der Salzionen.

Die schon von anderen Autoren und neuerdings von mir beobachteten merkwürdigen Wachstumsformen der Bakterien sind allem Anscheine nach, wenn sie auch durch die Salze in besonders ausgeprägtem Maße hervorgerufen werden, als eine Erscheinung von allgemeinerer Bedeutung aufzufassen und scheinen überall dort aufzutreten, wo es zu Aenderungen, und nicht bloß wo es zu Störungen in der Ernährung kommt. Es sei in dieser Beziehung unter anderen Beobachtungen auch auf eine Arbeit von **Grassberger** über Rauschbrand hingewiesen. Nicht bloß daß die im Rauschbrandsaft enthaltenen Stäbchen sich in ihrem Aussehen von den auf Agar mit Zusatz von Rindermuskelstückchen erhaltenen unterscheiden, gelingt es schon, durch häufige Uebertragung die Rauschbrandbacillen wesentlich zu verändern. Durch das oftmalige Ueberimpfen kommt man zu einem asporogenen Zustand des Rauschbrands. Mit diesem Zustand sind Gestaltsveränderungen verbunden. Die Stäbchen werden plump, und während die ursprünglichen Bacillen beweglich und peritrich begeißelt sind, werden diese geißellos und unbeweglich. Diese beiden Formen unterschieden sich auch in ihrer Vergärungstätigkeit. Auch bei Züchtung auf Platten ergaben sich beim Oberflächenwachstum unter dem Einflusse geringer Mengen von Sauerstoff, die nicht abzuhalten sind, alle möglichen Formen, so daß man daran zweifeln konnte, eine Reinkultur vor sich zu haben. Aus diesen Untersuchungen geht also tatsächlich hervor, daß schon geringe Einflüsse und Aenderungen in der Ernährung Formveränderungen der Bakterien erzeugen können.

Wenn am Anfange dieser Ausführungen die innige Beziehung der Salze zu den Plasmakolloiden und ihre Wichtigkeit für die Erhaltung desjenigen Zustandes, von dem der richtige Ablauf der Zellfunktionen abhängig ist, hervorgehoben wurde, so möge zum Schlusse noch darauf hingewiesen werden, in wie mannigfaltiger Weise das Protoplasma auf äußere Einwirkungen reagieren kann. Dabei ergeben sich selbst für nahestehende Organismen, wie es die einzelnen Bakterienarten sind, recht beträchtliche Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit, wie wir sie z. B. bei Vibrio El Tor und B. subtilis gegenüber der entwickelungshemmenden Wirkung des Lithiumchlorids beobachtet haben. Unterschiede in biologischer Hinsicht sind in vielen Fällen bei Bakterien beobachtet worden und haben zur Unterscheidung nahe verwandter Arten geführt, bei denen das morphologische Verhalten zu einer Differenzierung nicht ausreichte.

Zusammenfassung.

1) Die einzelnen Bakterienarten sind verschieden empfindlich gegen Salzwirkungen. Das Lithiumchlorid, das in einer $\frac{n}{10}$-Konzentration auf B. subtilis entwickelungshemmend wirkt, läßt auch in doppelter Konzentration keinen Einfluß auf das Wachstum von Vibrionen erkennen.

2) Die Entwickelungshemmung des Lithiumchlorids auf B. subtilis kann durch bestimmte Mengen zweiwertiger, nicht aber einwertiger Salze aufgehoben werden.

3) Die Entwickelungshemmung des B. subtilis durch ein zweiwertiges Salz, das Manganochlorid, kann durch bestimmte Mengen sowohl ein- als auch zweiwertiger Salze aufgehoben werden. Nicht gelungen ist es bisher, die Wirkung des Sublimats durch einen Zusatz eines anderen Salzes aufzuheben.

4) Die verschiedenen Neutralsalze bewirken, dem Nähragar zugesetzt, eine deutliche Gestaltsveränderung der Vibrionen, sie erzeugen sogenannte Involutionsformen. Dabei kommen jedem Salze bis zu einem gewissen Grade eigentümliche Formen zu.

5) Die Stärke des von den Salzen ausgeübten formativen Reizes ist von der Wertigkeit der Kationen abhängig, so daß zweiwertige Salze noch in bedeutend geringeren Mengen Involutionsformen erzeugen als

einwertige. Die Rolle des Anion scheint von untergeordneter Bedeutung zu sein.

6) Die durch ein einwertiges Salz hervorgerufene Formveränderung wird durch Zusatz bestimmter Mengen eines anderen zweiwertigen, nicht aber durch andere einwertige Salze aufgehoben.

7) Die Fähigkeit der Salze, mit zweiwertigem Kation Involutionsformen zu erzeugen, schwindet bei Zusatz anderer ein- und zweiwertiger Salze.

8) Auch bei B. diphtheriae können durch Neutralsalze der Alkali- und Erdalkalimetalle Involutionsformen hervorgebracht werden. Es sind jedoch zu diesem Zwecke größere Salzmengen erforderlich als bei den Vibrionen.

9) Das Auftreten von abnormen Wachstumsformen durch die Anwesenheit eines Salzes im Nährboden läßt sich bei dieser Bakterienart durch ein anderes Salz nicht oder nur höchst unvollkommen rückgängig machen, offenbar deswegen, weil die zur Erzeugung von Involutionsformen notwendigen Salzmengen zu groß sind, als daß sie in ihrer Wirkung durch ein anderes Salz aufgehoben werden könnten.

Literatur.

Bennecke, Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. 1907. p. 331.
Grassberger, Arch. f. Hyg. Bd. 53. p. 158.
Hankin u. Leuman, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 22. p. 438.
Herbst, Arch. f. Entwickelungsmechanik. Bd. 5 u. 11.
Kossel u. Overbeck, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 18. 1901.
v. Lingelsheim, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. p. 203.
Loeb, Pflügers Arch. Bd. 88. 1901; Bd. 97. 1903; Bd. 103. 1904; Bd. 107.
—, Biochem. Zeitschr. Bd. 2. 1906.
Loeb u. Gies, Pflügers Arch. Bd. 93. 1902.
Maarten, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte. Bd. 21. 1904. p. 385.
Matzuschita, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 35. 1900.
Osterhout, Pflügers Arch. Bd. 107.
Ostwald, Pflügers Arch. Bd. 106. 1905.
v. Portheim u. Lamec, Flora. Bd. 99. 1909.
Ringer, Journ. of physiol. Bd. 16. 1894.
Rosenfeld, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 30. p. 641.
Skschivan, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. 28. p. 289.

Figurenerklärung.

Fig. 1. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,4 g NaCl.

Fig. 2. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,4 g NaCl + 0,05 g $Ca(NO_3)_2$.

Fig. 3. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,4 g NaCl + 0,1 g $Ca(NO_3)_2$.

Fig. 4. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,1 g LiCl.

Fig. 5. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,1 g LiCl + 0,05 g $Ca(NO_3)_2$.

Fig. 6. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,1 g LiCl + 0,1 g $Ca(NO_3)_2$.

Fig. 7. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,1 g LiCl + 0,1 g $Mg(NO_3)_2$.

Fig. 8. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,1 g $Mg(NO_3)_2$.

Fig. 9. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von Vibrio El Tor V auf 10 ccm Agar + 0,15 g LiCl.

Fig. 10. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von B. diphtheriae auf 10 ccm Agar + 0,6 g NaCl.

Fig. 11. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von B. diphtheriae auf 10 ccm Agar + 0,3 g LiCl.

Fig. 12. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von B. diphtheriae auf 10 ccm Agar + 0,2 g $Mg(NO_3)_2$.

Fig. 13. Präparat aus einer 24 Stunden alten Kultur von B. diphtheriae auf 10 ccm Agar + 0,2 g $Mg(NO_3)_2$ + 0,05 $Ca(NO_3)_2$.

Nachdruck verboten.

Einfluss besonderer indifferenter chemischer Stoffe auf die Umwandlung der pathogenen Bakterien in Impfstoffe.

[Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Universität Palermo.
(Direktor: Prof. L. Manfredi.)]

Experimentelle Untersuchungen.

Von Dr. **Eduardo Carapelle** und Dr. **Vincenzo Ferrara.**

Oele und Schweineschmalz.

(E. Carapelle.)

Die verschiedenartigsten Methoden sind zur Gewinnung sicherer und wirksamer Impfstoffe aus den Bakterien in Vorschlag gebracht und studiert worden, doch sind in den meisten Fällen die Resultate wenig befriedigend, sei es, weil die Hilfsmittel, über die wir verfügen (Wärme, Exsikkation, Extraktionen in sauren oder alkalischen Medien usw.), nicht geeignet sind, oder weil die verwendete Energie nicht in richtigem Verhältnis zu dem Zweck steht. Es werden so beständig neue Methoden ausgedacht zum Ersatz der bereits bekannten, die sich schlecht bewährt haben.

In Verfolgung dieser Vorstellung stellten Levy, Blumenthal und Morsner nach langen Versuchen fest, daß die basischen oder sauren Substanzen die biologischen Eigenschaften der Eiweiße verändern können; sie wandten deshalb ihre Aufmerksamkeit den neutralen oder indifferenten Stoffen zu, und bedienten sich gerade derjenigen, welche in geringen Proportionen die Lebensfähigkeit der Keime begünstigen (Glyzerin, Harnstoff, Zucker, Galaktose, Dextrose).

Der Austritt der Impfstoffe aus den Bakterienleibern wurde durch die Plasmolyse bestimmt, indem die Lösung des indifferenten chemischen Stoffes eine höhere molekulare Konzentration als das Protoplasma besaß. Die Osmose wurde sodann durch Schütteln und eine Temperatur von 37° C begünstigt. Es wurde so nach einer gewissen Zeit eine Emulsion erhalten, deren pulverisierter Trockenrückstand aseptisch erhalten werden konnte. Zu Impfzwecken muß die Extraktion nach dieser Methode bis zum Tode der Bakterien fortgesetzt werden, da sonst toxische oder nicht impfende Stoffe in Lösung gehen. Ebenso lassen sich durch Variieren der Quantität des chemischen Stoffes verschiedene Grade der Abschwächung des Mikroben erhalten.

Die nach dieser Methode versuchten Impfungen sollen bei Typhus, Rotzkrankheit und sogar bei Tuberkulose positive Resultate gegeben haben.

Die erwähnte Arbeit schließt sich zweifellos in gewisser Hinsicht an diejenige von Prof. Manfredi über das Uebermaß des Fettes in der Ernährung der pathogenen Mikroorganismen als Ursache der Abschwächung ihrer Virulenz an. In der Tat haben wir es auch hier mit indifferenten chemischen Stoffen zu tun, wenngleich die Wirkungsweise eine ganz andere als die der Osmose sein muß.

Einige wollten sie durch Annahme einer zusammenballenden Wirkung seitens der Fette erklären; doch wenn sich dies auch für die Mikroorganismen im Innern der Gewebe annehmen läßt, so ist diese Annahme doch nicht zulässig für diejenigen, welche, auf mit Fetten untermischtem Agar gezüchtet und dann in Wasser aufgeschwemmt, in das Peritoneum eingeimpft werden. Denn die fortgenommenen Kulturbelage können nur Spuren von Fetten enthalten, und wenn man noch bedenkt, daß die Abschwächung noch weiter geht bei Kulturen, welche, aus Mischböden stammend, dann auf gewöhnlichen Böden zur Entwickelung gebracht werden, so läßt sich eine zusammenballende Wirkung nicht in Anspruch nehmen. Vielleicht ließe sich unter dem Licht der modernen Theorieen allenfalls eine Komplementwirkung annehmen, wie sie einigen Fetten, wie dem Lecithin und Cholestearin, zuerkannt worden ist.

Jedenfalls ergibt sich, daß die Mikroorganismen durch eine besondere Ernährung eine Abschwächung erfahren, der innerste Mechanismus hiervon aber entzieht sich uns noch.

Die von Manfredi in unwiderlegbarer Weise ins Licht gerückte Erscheinung blieb, obwohl sie neuen Ausblicken die Bahn eröffnete, doch isoliert, ja die Autoren haben sich unter Entstellung ihres Grundgedankens in den weiteren Untersuchungen nachzuweisen bemüht, ob die Fette als gute Nährböden betrachtet werden könnten oder nicht und ob in ihnen die Bakterien ihr Leben und ihre Virulenz erhalten könnten. Wenn die Frage unter diesem Gesichtspunkte von Interesse sein konnte, so war es doch immer nur unter einem sekundären Gedankengang. Uebrigens stehen im Einklang damit die schönen Untersuchungen von Scola und Alessi, Rabinowitsch u. a., denen sich die Arbeit von Binaghi anschließt, die jedoch in dieser Hinsicht durchaus nichts Neues bringt.

Gehen wir auf die Arbeit Binaghis etwas näher ein, so sagt er: „In tanto contrasto di risultati mi parve opportuno riprendere la questione dall' inizio studiandone la base fondamentale vale a dire stabilendo: nei grassi in genere, tanto animali che vegetali, i principali germi patogeni trovano o no le condizioni favorevoli per il loro sviluppo e conservano o no il loro potere patogeno? Poichè nelle ricerche del Manfredi, certamente condotte con esattezza, esiste un punto, secondo me, importante e discutibile e che può dar luogo a divergenze nei risultati e quindi nelle deduzioni. Ed è questo: Altro è sperimentare con terreni di cultura misti e altro è sperimentare con grassi puri: nel primo caso è possibilissimo che i microorganismi si sviluppino e però si attenuino, nel secondo, cioè nei grassi, i microorganismi possono non svilupparsi o svilupparsi stentatamente e quindi non attenuarsi“ 1).

---

1) „Bei derartigem Widerstreit der Resultate scheint es mir angezeigt, die Frage von Anfang an wieder aufzunehmen und deren erste Grundlage zu studieren, d. h. festzustellen: Finden in den Fetten überhaupt, sowohl tierischen wie pflanzlichen, die hauptsächlichen pathogenen Keime günstige Bedingungen für ihre Entwickelung oder nicht und behalten sie ihr pathogenes Vermögen bei oder nicht? Denn in den, sicher mit Exaktheit geführten Untersuchungen Manfredis findet sich ein, meiner Meinung

Welches ist nun der Widerstreit der Versuchsresultate? Rabinowitsch, Scola und Alessi sind einig darin, daß die Fette gefährlich sein können, sei es, wenn sie von infizierten Tieren stammen, sei es, wenn sie in den verschiedenartigsten Weisen auf dem Markt verunreinigt wurden. Ricdein und Aradas, die von dem Verfasser zitiert werden, behandeln die Wirkung der Essenzöle, und ihre Untersuchungen gehören daher, wenn sie auch bestritten werden, nicht in den uns beschäftigenden Gedankengang. Die Untersuchungen Manfredis haben nichts mit denjenigen der oben zitierten Autoren zu tun, indem er sich auf den Gedanken stützt, daß die in feinster Verteilung mit Nährböden untermischten Fette, derart, daß die Mikroorganismen zu einer besonderen Ernährung genötigt werden, imstande seien, deren Lebenstätigkeit bis zur Abschwächung zu modifizieren. Auf diesen Punkt hätte Binaghi die Diskussion bringen müssen und nicht auf das Thema des möglichen Lebens oder einer Abschwächung in reinen Fetten; hierdurch bestätigt er die Untersuchungen früherer Autoren und widerlegt nicht diejenigen Manfredis.

In der Tat kam er zu dem Schluß, daß die Fette kein guter Kulturboden für die Mikroorganismen sein können, ohne zweier Bedingungen Rechnung zu tragen, welche bei diesem Resultat große Bedeutung haben können und zwar des Zustandes der Anaërobiose, den er für die direkt in die Fette ausgesäten Mikroorganismen schuf, und der freien Fettsäuren, welche unausbleiblich auch in den reinsten Fetten stets enthalten sind.

Die Versuche Schreibers ergänzen in dieser Hinsicht diejenigen von Binaghi, indem dieser Autor die Mikroorganismen in Fetten kultivierte, denen er zwecks Neutralisierung der Acidität des Mediums Calciumkarbonat zusetzte. Seine Schlußfolgerungen stimmen mit denjenigen Binaghis unter dem Gesichtspunkte überein, daß die reinen Fette für sich allein keine Nährböden für die Mikroorganismen bilden.

Gleichsam als ob die erschöpfenden Untersuchungen Schreibers und der übrigen Autoren nicht ausreichend gewesen wären, nehmen Guargena und Lombardo Pellegrino das Argument von den reinen Fetten wieder auf, wobei sie stets zu den gleichen Schlüssen kommen. Lombardo Pellegrino vergleicht sodann die Untersuchungen Manfredis mit denjenigen von Binaghi und merkt dabei nicht, daß die beiden Arbeiten durchaus nicht vergleichbar sind, da die Absichten und Richtungen derselben verschiedene sind. Abgesehen weiterhin davon, daß ihm unbekannt ist, daß das Glyzerin kein Fett ist, kultiviert er die Mikroorganismen im Zustande der Anaërobiose und verwendet zwecks Emulsionierung des Fettes das Emulsin (!), auf diese Weise seine Unkenntnis über die Natur und die Eigenschaften dieses Ferments (Oppenheimer) zeigend. Der Schluß, den er aus seinen Versuchen zieht, ist demnach ein irriger, denn er behauptet, daß der Keim nicht das Fett als solches absorbiert, auch nicht, wenn es emulsioniert ist, während er, wenn ihm die Untersuchungen Schreibers bekannt gewesen wären, gewußt hätte, wie bei Emulsionierung der Fette

---

nach, wichtiger und diskutabler Punkt, der zu Abweichungen in den Resultaten und demgemäß in den Schlüssen Anlaß geben kann. Und zwar ist es dieser: Etwas anderes ist es, mit gemischten Kulturböden zu experimentieren und etwas anderes mit reinen Fetten zu experimentieren. Im ersten Fall ist es sehr wohl möglich, daß die Mikroorganismen sich entwickeln und demnach eine Abschwächung erfahren, im zweiten, d. h. in den Fetten, kann es sein, daß sich die Mikroorganismen nicht entwickeln, oder aber sich nur kümmerlich entwickeln und demnach keine Abschwächung erfahren."

mit Gummi arabicum diese leichter und vollständiger durch die hierin durch den Zustand äußerster Verteilung der Fette und die größere Menge vorhandenen Sauerstoffes unterstützten Keime zerstört werden.

Die Arbeit Manfredis, die ich kurz zusammenfasse, bleibt demnach noch die einzige in der medizinischen Literatur. Ausgehend von der Vorstellung, daß in den pathologischen Produkten mit vorwiegend fettem Inhalt (käsige Phase der Tuberkulose, Specksubstanz bei Degeneration der Gewebe durch den Bacillus der Hühnercholera usw.) die Bacillen eine Abschwächung erfahren, stellte er in dem Verhältnis von $^2/_3$, $^1/_2$, $^1/_3$, $^1/_4$ mit Butter gemischte Nährböden her. Die untersuchten Mikroorganismen waren der Milzbrandbacillus und der der Büffelseuche (barbone dei bufali), die mit der Entwickelung verträgliche höchste Proportion an Fett war $^1/_3$ Butter auf ein Volumen Agar. So wurde die allmähliche Abschwächung der Bakterien erhalten bis zu Kulturen, welche nur noch eine gegebene Species von Versuchstieren (Ratten beim Milzbrand, Kaninchen bei der Büffelseuche) töteten.

Aus den so abgeschwächten Milzbrandkulturen wurden stets Rückkehrkulturen in gewöhnlichen Nährmitteln erhalten, welche den erworbenen Abschwächungsgrad unverändert beibehielten und von Generation auf Generation übertrugen. Die an Meerschweinchen angestellten Impfversuche waren nie von guten Resultaten gekrönt, die Präventiveinimpfung von abgeschwächter Kultur hatte keinen weiteren Erfolg als die Verzögerung des Todes; bei den Kaninchen war die Impfung schwer, gelang aber manchmal. Die Analogie der Resultate zwischen dieser Impfmethode und der gewöhnlich von Pasteur verwendeten erlaubt die Vermutung, daß die Praxis, auf Hammel und Großvieh ausgedehnt, nützliche und praktische Resultate geben könnte.

Der Bacillus der Büffelseuche erfährt in mit Fetten untermischten Kulturen ebenfalls eine Abschwächung, doch ist es nicht möglich, durch Rückkehrkulturen in gewöhnliche Nährböden irgendeinen Abschwächungsgrad zu einem dauernden zu gestalten und zu fixieren. Nichtsdestoweniger verlieren diese aus im Fett abgeschwächten Kulturen stammenden Bakterien, wenn sie von neuem mit dieser Substanz in Kontakt gebracht werden, ihre Virulenz bedeutend früher als die übrigen Bakterien.

Die Impfung gegen die Büffelseuche ist mit großer Leichtigkeit bei Meerschweinchen und Ratten, in beschränktem Maße auch bei Schafen gelungen.

Ich habe die Untersuchungen Manfredis wieder aufnehmen wollen; wobei ich mich derselben Mikroorganismen (Milzbrandbacillus und Büffelseuchebacillus) bediente und sie in mit Schweineschmalz und verschiedenen Oelen (Mandelöl, Olivenöl, Ricinusöl, Sesamöl, Lebertran) untermischten Böden züchtete.

Die verwendete Dosis war $^1/_3$ Fett auf $^2/_3$ Agar, da sich die Emulsion sehr weich zeigte, war ich gezwungen, einen 3-proz. Agar zu benutzen. Der so hergestellte Nährboden wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen 1 Stunde lang im Dampfstrom sterilisiert, wobei für tüchtiges Schütteln am Ende einer jeden Sterilisation Sorge getragen wurde, um eine gute Emulsion zu erhalten. Bei der letzten Sterilisation wurde der Agar rasch emulsioniert und in Eiswasser erkalten lassen.

Höhere Fettmengen als dem oben erwähnten Verhältnis entsprachen, machten den Nährboden wenig kompakt und schieden sich leicht ab; unter solchen Bedingungen ist das Bakterienleben unmöglich!

Der Milzbrandbacillus entwickelte sich auf Mischböden stets üppig, nicht so der Büffelseuchebacillus, dessen Entwickelung einige Male kaum als äußerst zartes glänzendes Häutchen sichtbar war.

Durch die mikroskopischen Beobachtungen habe ich keinerlei morphologische Besonderheit in den beiden untersuchten Species wahrgenommen. Die von mir verwendeten Fette hatten folgende physikalischen Konstanten:

	Spezifisches Gewicht	Schmelzpunkt	No. der Verseifung	No. von Reichert	No. des Jods
Mandelöl	918	—	190	—	95
Olivenöl	915	—	192	3	81
Ricinusöl	968	—	180	2,8	85
Sesamöl	923	—	191	1,2	108
Lebertran	925	—	190	—	152
Schweineschmalz	—	40	196	—	60

Milzbrand.

Die Kultur tötete das Meerschweinchen vom Durchschnittsgewicht von 330 g in 40 Stunden bei der Dosis von $^1/_{50}$ Oese einer Agarkultur.

Nach erzielter Entwickelung auf Mischboden und 5-tägigem Aufenthalt im Brutofen bei 37° wurde $^1/_2$ Oese, geeignet in physiologischer Lösung verdünnt, eingeimpft.

Die mit unter den nämlichen Bedingungen, aber auf einfachem Agar entwickelter Kultur geimpften Kontrolltiere starben in 25—30 Stunden, während die mit Kulturen, die von auf fettuntermischten Böden entwickelten Bakterien stammten, behandelten Tiere in verschiedener Zeit von 2—3 Tagen starben; einige zeigten auch ein leichtes Oedem. Es starben zuerst die mit Kulturen, welche aus mit Mandelöl untermischtem Nährboden stammten, geimpften Meerschweinchen, dann die mit Kulturen, welche aus mit Olivenöl, Sesamöl, Ricinusöl, Lebertran, Schweineschmalz untermischtem Nährboden stammten, behandelten.

Es wurden weitere Ueberpflanzungen aus diesen Kulturen in neue Mischböden gemacht und nach weiteren 5 Tagen des Aufenthaltes im Brutschrank die Virulenz geprüft.

Die Kontrollkultur bewahrte noch die ursprüngliche Virulenz, nur daß der Tod in 36—40 Stunden erfolgte. Bei den Kulturen aus mit Fetten untermischten Nährböden starben die mit Mikroorganismen aus mit Sesamöl, Olivenöl, Ricinusöl untermischten Nährböden behandelten Meerschweinchen in 3 Tagen; nach 2 Tagen die mit Bacillen aus mit Mandelöl untermischten Böden geimpften; es überlebten die mit Kulturen aus mit Lebertran und Schweineschmalz untermischten Böden behandelten.

Die abgeschwächten, wieder durch die gewöhnlichen Nährböden geführten, von mir bis zur 4. Ueberführung verfolgten Kulturen behalten den erlittenen Abschwächungsgrad bei.

Vergleichen wir die von mir erzielten Resultate mit denjenigen Manfredis, so muß ich sagen, daß sich das Schweineschmalz und der Lebertran in ihren abschwächenden Wirkungen der Butter mehr nähern als die übrigen Oele, welche Fette pflanzlicher Natur sind. Vielleicht hätte ich, wenn ich mit weiteren Ueberführungen fortgefahren hätte, das Ueberleben der Meerschweinchen auch bei den Impfungen mit Kulturen aus mit pflanzlichen Oelen untermischten Nährböden erreichen können, jedenfalls aber wäre der oben verzeichnete Unterschied nicht aufgehoben worden, und von den pflanzlichen Oelen ist das Mandelöl dasjenige, welches die geringste abschwächende Wirkung entfaltet.

Ob so abgeschwächte Kulturen eine nützliche Verwendung zur Impfung von Großvieh finden könnten, ist wahrscheinlich, doch kann ich es nicht behaupten, da auch ich mich der Schwierigkeit der Impfungsunmöglichkeit der Meerschweinchen und fast möchte ich sagen der Kaninchen gegenüber befunden habe. Jedoch steht fest, daß man unter Berücksichtigung der abgeschwächten Bakteriendosis in bezug auf die Virulenz (50 : 1) und die Empfänglichkeit des bei dem Versuch benutzten Tieres annehmen muß, daß eine tiefgehende Abschwächung erzielt worden ist und daß ein solcher Impfstoff sehr wohl eine praktische Anwendung finden könnte.

Büffelseuche (barbone dei bufali).

Die verwendete Agarkultur hatte eine derartige Virulenz, daß $^1/_{100}$ Normalöse, in das Peritoneum eingeimpft, das Meerschweinchen vom Durchschnittsgewicht von 300 g in 24 Stunden tötete.

In der ersten Reihe erhielten die Tiere eine Dosis von $^1/_{50}$ Oese einer Kultur, die von in Fett untermischten, 5 Tage lang bei 37° gehaltenen Nährboden entwickelten Bakterien stammte. Es überlebten die Meerschweinchen, die mit Kulturen aus mit Mandelöl, Lebertran und Schweineschmalz untermischten Nährböden geimpft worden waren; es starb in 79 Stunden das mit Kultur aus mit Olivenöl untermischtem Nährboden behandelte, in 9 Tagen die mit Kulturen aus mit Olivenöl bezw. Sesamöl untermischten Nährböden geimpften.

In der zweiten Reihe wurde dagegen eine Dosis von $^1/_2$ Oese eingeimpft, doch war die Kultur 5 Tage lang im Brutofen gehalten worden und die Aussaat stammte aus dem nämlichen Mischboden der ersten Reihe.

Es überlebte allein das Meerschweinchen, das mit einer Kultur aus mit Schweineschmalz untermischtem Nährboden behandelt worden war, während die mit Bakterien, die auf mit Sesamöl, Mandelöl, Olivenöl untermischten Nährböden entwickelt waren, geimpften in 10 Tagen starben, in 14 Tagen die mit Kulturen aus mit Ricinusöl und Lebertran untermischten Nährböden geimpften.

In der dritten Reihe wurde 1 Oese einer 3 Tage im Brutofen bei 37° gehaltenen Kultur eingeimpft, deren Aussaat aus den Kulturen der zweiten Reihe stammte.

Es überlebten die Meerschweinchen, welche mit Kulturen aus mit Sesamöl, Lebertran, Mandelöl und Schweineschmalz untermischten Nährböden behandelt worden waren; es starben in 5 Tagen die mit Kulturen aus mit Olivenöl untermischten Nährböden behandelten, in 10 Tagen die mit Kulturen aus mit Ricinusöl untermischten Nährböden geimpften. Die Kontrolltiere einer jeden Reihe starben stets in 24 Stunden mit $^1/_{100}$ Oese Agarkultur.

Von den Meerschweinchen, welche bei der letzten Behandlung überlebten und denen dann 50 tödliche Dosen eingeimpft wurden, zeigten sich nur diejenigen geimpft, denen Kulturen aus mit Schweineschmalz untermischten Nährböden eingeimpft worden waren, während die übrigen in 2—3 Tagen starben. Es wurde hier demnach nur eine Verzögerung des Todes erzielt.

Die auf Fetten abgeschwächten Kulturen erlangen nach 3—4 Ueberführungen in gewöhnliche Nährböden fast vollständig die verlorene Virulenz wieder.

Beim Vergleich dieser Resultate mit den von Manfredi erzielten bemerkt man auch hier, daß die abschwächende Wirkung der tierischen Fette, Schweineschmalz und Lebertran, leichter zu erzielen ist, während eine entschiedene Impfeigenschaft nur bei den Kulturen erreicht wird, die aus mit Schweineschmalz untermischten Nährböden stammen.

Das Verhalten des Milzbrandbacillus ist von dem der Büffelseuche abweichend, da bei letzterem eine tiefgehende Abschwächung auch durch einige pflanzliche Oele, wie Sesamöl und Mandelöl, erhalten wird.

Auch bei dieser weiteren Reihe von Untersuchungen kommt man nicht über das theoretische Gebiet hinaus, insofern die zum Versuche benutzten Tiere sich nicht für die praktische Anwendung der Methode eignen.

Fettsäuren.

(V. Ferrara.)

Nach den oben mitgeteilten Untersuchungen Manfredis und Carapelles war die Frage naheliegend, ob die abschwächende Wirkung auf die untersuchten Bakterien vorzugsweise auf der einen oder anderen oder unterschiedslos auf sämtlichen eine gegebene Verbindung bildenden Fettsäuren beruhte. Ich habe daher das Trioleïn, Tripalmitin und Tristearin, wie sie von Merck in den Handel gebracht werden, einer Untersuchung unterworfen. Als Mikroorganismen verwendete ich stets den Milzbrandbacillus und den der Büffelseuche, die Technik war die gleiche wie die oben von Dr. Carapelle beschriebene, nur wurden das Tristearin und Tripalmitin mit dem Nährboden im Verhältnis von 2 Gewichtsprozent untermischt, für das Trioleïn wurde das Verhältnis von 1 : 2 in Volumina beibehalten.

Die Entwickelung ist stets eine kümmerliche gewesen namentlich bei dem Büffelseuchebacillus, und zwar schwieriger auf Tristearin und Palmitin als auf Trioleïn.

Milzbrand.

Die mit Keimen aus Kulturen auf Mischböden nach 5-tägiger Entwickelung im Brutofen bei 37° geimpften Meerschweinchen ($^1/_2$ Oese) sterben im allgemeinen nach 3—5 Tagen; ebensowenig wurde eine weitere Abschwächung erhalten durch Entnehmen der Aussaat aus diesen Kulturen und Ueberführen in neue Mischböden, die ihrerseits weitere 5 Tage lang im Brutofen gehalten wurden.

Büffelseuche.

Von den Meerschweinchen, die mit $^1/_{50}$ Oese einer Kultur aus Mischböden geimpft worden waren, überlebten die mit Bakterien aus mit Tripalmitin und Tristearin untermischten Nährböden geimpften, dagegen starb nach 10 Tagen das mit Kultur aus mit Trioleïn gemischtem Nährboden geimpfte.

In einer zweiten Reihe, deren Aussaaten aus Kulturen der vorausgehenden Reihe stammten, wurde nach 5-tägiger Entwickelung im Brutofen bei Einimpfung von $^1/_2$ Oese der Tod des Tieres nach 22 Tagen bei Bakterien aus Kulturen auf mit Tristearin und Trioleïn gemischten Nährböden erhalten, in 27 Tagen bei den aus Kulturen auf mit Tripalmitin untermischten Nährböden stammenden Bakterien.

In einer dritten Reihe, bei der die Aussaaten von der vorausgehenden Serie stammten und die Entwickelung über 3 Tage bei 37°

hinausgezogen worden war, tötete die Einimpfung 1 Oese Agarkultur das Meerschweinchen in 15 Tagen bei den Kulturen, welche von mit Tripalmitin und Tristearin untermischten Nährböden stammten, in 5 Tagen bei den von mit Trioleïn untermischten Nährböden stammenden.

Aus der Gesamtheit dieser Versuche ersieht man, daß keiner der für sich betrachteten Fettsäuren die besonders durch die Butter (Manfredi) und das Schweineschmalz unbestreitbar bewiesene abschwächende Wirkung zuzuschreiben ist; dazu ist demnach ihre Mischung, die Vereinigung derselben, wie sie in den natürlichen Fetten angetroffen wird, notwendig. Die Tatsache sodann, daß das Trioleïn dasjenige ist, welches die geringste abschwächende Energie gegenüber dem Tripalmitin und Stearin besitzt, erklärt uns zum Teil, warum die vegetabilischen Oele, welche eine große Quantität dieses Glyzerids enthalten, eine geringere abschwächende Wirkung besitzen als die übrigen Fette.

Schlußsätze.

Aus vorstehenden Versuchen können wir zu dem Schluß kommen, daß die Fette, während sie für sich allein sich wenig für die Entwickelung der Mikroorganismen eignen, fein mit den Nährmedien emulsioniert, Substrate bilden, auf denen die Bacillen des Milzbrandes und der Büffelseuche eine fortschreitende Abschwächung erfahren.

Diese Abschwächung ist am ausgeprägtesten bei den mit tierischen Fetten (Schweineschmalz, Lebertran) untermischten Nährböden, weniger bei den mit vegetabilischen Fetten (Mandelöl, Olivenöl, Sesamöl, Ricinusöl) untermischten.

Es ist möglich, die Meerschweinchen gegen den Bacillus der Büffelseuche mit Kulturen zu impfen, welche von mit Schweineschmalz untermischten Nährböden stammen, die sich in jeder Beziehung wie die von Manfredi versuchten mit Butter untermischten verhalten.

Die Fettsäuren schwächen, isoliert genommen, gleich den Oelen und dem Schweineschmalz die Virus, mit denen wir uns beschäftigen, ab, während jedoch bei Gleichheit der Bedingungen nur eine Verzögerung des Todes der Versuchstiere (Meerschweinchen) erhalten wird, werden mit den zweiten diese nämlichen Virus ganz unschädlich für die erwähnten Tiere.

Eine ausgeprägte abschwächende Wirkung scheint demnach auf dem Komplex der Fettsäuren zu beruhen, doch ist es unter diesen das Trioleïn, welches sich der geringsten Wirkung auf die untersuchten Bakterien erfreut.

Nur in großem Maßstab an größeren Tieren ausgeführte Versuche könnten entscheiden, ob und wie weit diese Methode eine nützliche Anwendung in der Praxis finden könnte.

Literatur.

Levy, Blumenthal und Morsner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. 44. 1906.

Manfredi, Rendic. dell' accad. dei Lincei. Vol. 3. 1887.
Scola e Alessi, Atti d. R. accad. di Roma. Anno 16. Vol. 4.
Rabinowitsch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 26.
Ricdein, Diss. München 1887.
Aradas, Atti dell' accad. Gioenia di Catania. 1888.
Schreiber, Arch. f. Hyg. Bd. 41. 1902.
Oppenheimer, Die Fermente. 1903.
Lombardo Pellegrino, Ann. d' Ig. sperim. 1904.
Guargena, Rivista d' Ig. e Società. 1905.
Binaghi, Riforma med. 1899.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Identität von Tropinen und Lysinen.

Bemerkungen zu den Arbeiten von Bezzola im Centralbl. f. Bakteriol. Orig. Bd. 50. Heft 5.

Von Prof. **F. Neufeld.**

Der größte Teil der ersten Arbeit von Bezzola beschäftigt sich mit dem Verhalten alter, karbolkonservierter Antierythrocytensera in bezug auf ihre cytotrope Wirkung. Der Autor knüpft an eine von mir in Gemeinschaft mit Bickel publizierte Arbeit (Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 27. p. 310) an und sagt: „Neufeld und Bickel haben als Beweis der Verschiedenheit der Cytotropine und Hämolysine auch eine Beobachtung herangezogen, die sie an alten Immunseris gemacht haben. Derartige Sera sollen viel früher ihre cytotropische Wirksamkeit als ihre hämolytische Fähigkeit einbüßen."

Hier liegt ein Irrtum von Bezzola vor. Wir haben eine derartige Beobachtung nicht beschrieben. Da aber Bezzola bei der Untersuchung alter Serumproben fand, daß in denselben das Ausbleiben der Phagocytose weniger durch einen Verlust an Tropin als durch das Auftreten von hemmenden Stoffen bedingt war, und da er hieraus den Schluß zieht, daß auch in den von uns untersuchten Fällen durch derartige Hemmungserscheinungen ein Mangel an Tropinen nur vorgetäuscht sein könne, so möchte ich auf diesen Punkt kurz eingehen.

Diese Hemmungserscheinungen durch einen Ueberschuß von Serum sind von Bickel und mir bereits ausführlich beschrieben worden (p. 313—314, Beispiele in den Tabellen p. 316 u. 318; in den späteren Tabellen ist mit Rücksicht auf die Häufigkeit dieser Hemmung die Rubrik mit 0,1 Serum zum Teil gar nicht mehr ausgefüllt). Wir haben auch auf die Möglichkeit eines Irrtums hingewiesen, falls man sich damit begnügt, nur die Röhrchen mit den stärksten Serumkonzentrationen zu untersuchen. Wir haben jedoch solche Hemmungen nur bis zu einem Serumgehalt von 0,03 herab beobachtet und angegeben, daß „diese paradoxe Erscheinung in unseren Fällen nicht vorzugsweise bei älteren, sondern ebenso oft bei frischen Serumproben zur Beobachtung kam". Da sich aber in unseren Protokollen keine Versuche mit so alten (5 bis 8 Monate alten) Serumproben finden, wie sie Bezzola untersuchte, so würde damit seine Angabe, daß bei ganz alten karbolkonservierten Sera noch stärkere Hemmungen auftreten, nicht im Widerspruch stehen. Allerdings finde ich in den Tabellen Bezzolas keinen Versuch, aus dem mit Sicherheit hervorgeht, daß Dosen unter 0,05 Hemmung bewirken können; vielmehr erscheint es als möglich, daß in den alten

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Sera neben der Hemmung auch eine wirkliche Abschwächung der Tropine eingetreten ist (hiermit würde übereinstimmen, daß laut Tabelle XI ein derartiges Serum im Bindungsversuch zwar deutlich, aber doch nur recht schwach cytotrop wirkte).

Keinesfalls können solche Hemmungserscheinungen herangezogen werden, um zu erklären, daß sich bei unseren Serumproben so große Differenzen zwischen dem Gehalt an Lysinen und Tropinen fanden. Versuche an so alten Sera haben wir überhaupt in unseren Protokollen nicht verwertet, und die stärksten Differenzen, die in unseren beiden Protokollen p. 316 u. 317 verzeichnet sind, betreffen sogar je zwei Paare von Serumproben, die dem gleichen Tier innerhalb 48 Stunden entnommen wurden. Diese Proben sind von 0,1—0,0003 herab genau ausgewertet (und zwar einige Tage nach der Entnahme, die Versuche wurden später noch mehrmals mit demselben Ergebnis wiederholt); dabei war der Hämolysingehalt der Proben in dem einen Falle annähernd der gleiche, während im anderen Falle die zweite Entnahme etwa 10mal stärker hämolytisch wirkte als die erste; der Gehalt an Tropinen aber differierte derart, daß in beiden Fällen die erste Serumprobe in keiner Verdünnung, die zweite dagegen in allen Verdünnungen bis 0,0003 herab cytotrop wirkte. Für die Annahme, daß bei diesem Resultat eine Hemmung mitspielen könnte, scheinen mir weder unsere noch Bezzolas Befunde einen Anhaltspunkt zu bieten.

Es bleibt zwischen Bezzolas und unseren Ergebnissen wohl nur die Differenz bestehen, daß er ein derartiges Auseinandergehen der cytotropen und hämolytischen Wirkung verschiedener Serumproben nicht beobachtet hat. Hier entscheiden aber meines Erachtens die positiven, nicht die negativen Befunde. Wir haben selbst hervorgehoben, daß man nicht erwarten darf, solche Differenzen regelmäßig oder gar in so starkem Grade zu finden, vielmehr gehen Lysine und Tropine ebenso wie ja auch Lysine und Agglutinine in zahlreichen Fällen annähernd parallel. Am meisten Aussicht, stärkere Differenzen zu finden, bieten wohl Untersuchungen, die während des Anstiegs oder während der Ausscheidung der Immunstoffe angestellt werden. Während der letzten Periode gibt übrigens auch Bezzola an, gewisse Differenzen gefunden zu haben.

Auf die interessanten Ergebnisse der zweiten Arbeit von Bezzola über bakterizide Wirkungen des Paratyphusimmunserums hoffe ich noch eingehender zurückkommen zu können. Allerdings haben Hüne und ich keine Lysine gegen Paratyphus in unseren Fällen nachweisen können und diesen Befund im Sinne einer Trennung von Lysinen und Tropinen mit verwertet; wir haben jedoch ausdrücklich auf die Beobachtungen von Kutscher und Meinicke, die im Gegensatz zu uns einen starken extracellulären Zerfall der Paratyphusbacillen im Meerschweinchenperitoneum sahen, und auf die Tatsache, daß verschiedene Paratyphusstämme sich hierin offenbar verschieden verhalten, hingewiesen, und sind hiernach zu dem Schluß gekommen, daß die Verhältnisse beim Paratyphusserum komplizierter als z. B. beim Streptokokkenserum lägen und weiterer Klärung bedürften (Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt. Bd. 25. p. 187). Bezzola ist daher wohl nicht ganz im Recht, wenn er (p. 551) sagt, ich hätte „die Versuche . . aller derjenigen Autoren, welche in vivo Bakteriolyse . . beobachtet haben, einfach unberücksichtigt gelassen“.

Zweifellos hat uns Bezzola durch den Nachweis, daß sich unter bestimmten Bedingungen auch in vitro ein Zerfall von Paratyphusbacillen beobachten und auf einen komplexen Serumstoff zurückführen läßt, der Lösung der angedeuteten Schwierigkeiten einen Schritt näher gebracht, wenngleich damit die Differenzen zwischen den Beobachtungen in vivo und in vitro noch nicht aus der Welt geschafft sind. Was aber die Identität der Tropine mit den von Bezzola in vitro nachgewiesenen bakteriziden Ambozeptoren betrifft, so bedürfen da wohl auch die quantitativen Verhältnisse einer Berücksichtigung. In Bezzolas Versuchen werden, um $^1/_{10}$ Oese Paratyphusbacillen (um deutliche Bilder zu erhalten, nimmt man dazu am besten vorher abgetötete Bacillen) zur teilweisen Degeneration zu bringen, sehr große Dosen von Immunserum (0,05) und Komplement (0,5—0,75) gebraucht; in unseren Versuchen haben wir mit 0,0001—0,0005 Serum $^1/_{10}$ Oese Paratyphusbacillen zur Phagocytose sensibilisieren können. Wollte man annehmen, daß bei Paratyphusbacillen von demselben Serumstoff zur Phagocytose ganz außerordentlich viel geringere Mengen genügten als zur Bakteriolyse (was ja bei Typhus- und Cholerabacillen durchaus nicht der Fall ist), so steht dem der unzweideutige Ausfall der Reagensglasversuche entgegen: Die schwache bakterizide Wirkung, die Bezzola beobachtete, tritt nur bei Anwesenheit von Komplement, und zwar von ganz großen Dosen von unverdünntem oder 1:1 verdünntem Komplement auf, die Phagocytose dagegen bei völliger Abwesenheit des Komplements. Wer, wie Bezzola, die phagocytosebefördernde Wirkung des Paratyphusserums darauf zurückführt, daß die Bakterien durch das komplexe Lysin erst „angedaut“ und dann sekundär gefressen werden, müßte zunächst wohl diesen Widerspruch aufklären.

Meines Erachtens sprechen die beim Paratyphusserum vorliegenden Verhältnisse doch eher gegen als für eine Identität der Tropine und der bakteriziden Ambozeptoren, und Bezzola geht jedenfalls etwas zu weit, wenn er (p. 523) das Paratyphusserum „geradezu als Paradigma eines spezifischen bakteriolytischen Immunserums“ ansieht.

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zur Arbeit Petterssons: „Ueber die Wirkung der Leukocyten bei intraperitonealer Cholerainfektion“.

Von Dr. **E. Weil**, Prag.

Auf Grund einer vor 2 Jahren publizierten Mitteilung, „Ueber die Wirkung der Leukocyten bei intraperitonealer Cholerainfektion“ (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 43) gelangten wir zu dem Schlusse, daß die in der Bauchhöhle des Meerschweinchens angesammelten Leukocyten Choleravibrionen abtöten, selbst dann, wenn das in der Bauchhöhle vorhandene Komplement durch ein präzipitierendes System ausgeschaltet wurde.

Pettersson bestreitet die Richtigkeit dieser Versuche, indem er die Behauptung aufstellt, daß es uns nicht gelungen ist, die zellerfüllte Peritonealhöhle komplementarm zu machen, da dieselbe komplementreicher ist als unter normalen Verhältnissen. Unsere gegenteilige Annahme, die sich auf die bekannte Versuchsanordnung Metschnikoffs stützt, „ist völlig unrichtig“.

Um dies zu beweisen, führt Pettersson den Versuch aus, durch Ausspülen der normalen und leukocytenreichen Bauchhöhle den größeren Komplementgehalt der letzteren zu zeigen, ein Versuch, dessen Richtigkeit von vornherein zuzugeben ist und dessen Ausfall nicht anders zu erwarten war. Bei der Versuchsanordnung aber, die Metschnikoff zur Begründung seiner Ansicht aufgestellt hat, handelt es sich nicht um den Komplementgehalt der normalen zellreichen Bauchhöhle, sondern um den der infizierten. Es ist doch, was auch Pettersson zugeben muß, klar, daß das in dem Peritonealraum normalerweise angesammelte Komplement nicht ausreicht, um die große Menge injizierter Vibrionen in so kurzer Zeit aufzulösen, sondern daß es zu einer unter dem Reize der Infektion stattfindenden Transsudation von komplementhaltiger Flüssigkeit kommen muß. Daß aber das Komplement in der leukocytenerfüllten Peritonealhöhle nicht in dem Maße wirksam ist wie in der normalen, hat Metschnikoff in zahlreichen Versuchen nachgewiesen. Die gegenteilige Behauptung Petterssons hat letzterer nicht begründet, wenigstens finden wir in seiner Arbeit nicht ein Versuchsprotokoll, welches dies klar beweist, und seine diesbezüglichen Versuche, welche dies beweisen sollen, sind uns unverständlich; seine Experimente jedoch, welche den Komplementreichtum der nicht infizierten zellhaltigen Bauchhöhlenflüssigkeit demonstrieren, sind, wie eben ausgeführt wurde, wertlos.

Selbst wenn es sich aber so verhalten würde, wie Pettersson annimmt, so hätte diese Tatsache mit unseren Versuchen nicht das geringste zu tun, und der von Pettersson in einer uns unverständlichen Aufregung gegen uns gerichtete zweimalige Ausfall hätte sich in erster Linie gegen Metschnikoff richten müssen. Denn bei unseren Experimenten kam es uns darauf an, das Komplement aus der leukocytenhaltigen Bauchhöhle wegzuschaffen, und dabei ist es ganz gleichgültig, ob dieselbe komplementreicher oder -ärmer ist als die normale. Daß uns dies gelungen ist, beweist Versuch I und IV. Denn wenn man nach 2 Stunden noch intakte Vibrionen vorfindet, während beim Normaltier nach 30 Minuten fast nur Granula vorhanden sind, so hat wohl die Annahme, daß uns die Komplementausschaltung gelungen ist, Berechtigung.

Pettersson hat aber keinen einzigen Versuch angestellt, um sich von der Wirksamkeit unseres komplementbindenden Systems zu überzeugen, er hat weiter unseren Versuch, der seither von vielen anderen Autoren mit demselben Ergebnis angestellt wurde, in welchem wir zeigen konnten, daß die gewaschenen Meerschweinchenleukocyten in ihrem Innern Vibrionen auflösen, unberücksichtigt gelassen. Und gerade diese Experimente sind zur Bekräftigung unserer Ansicht ausgeführt worden. Pettersson hat aber eine neue, einfache, bisher in wissenschaftlichen Diskussionen nicht gebräuchliche Methode in Anwendung gebracht, die darin besteht, nur seine eigenen spekulativen Anschauungen, nicht aber die Experimente des Bekämpften zu diskutieren.

Pettersson mißt offenbar der hier aufgeworfenen Frage eine zu große Bedeutung bei. Es liegt uns fern, die Tatsache zu leugnen, daß bei der gewöhnlichen intraperitonealen Cholerainfektion den in den Säften gelösten Bakteriolysinen für die Vernichtung der Vibrionen die ausschlaggebende Rolle zukommt. Wir wollten nur zeigen, daß neben dieser bakteriziden Säftewirkung eine zweite, von dieser unabhängige und verschiedene Leukocytenbakterizidie unter gewissen künstlichen Bedingungen demonstriert werden kann. Dies ist uns sowohl im Tierkörper, als auch im Glase bei mikroskopischer Untersuchung gelungen. Außerdem haben wir in weiteren Experimenten, auf deren Erscheinen wir Pettersson zu warten bitten, mittels einer geeigneten Technik den Nachweis erbracht, daß man auch im bakteriziden Plattenversuch die Vernichtung der Choleravibrionen durch die isolierten Meerschweinchenleukocyten verfolgen kann. Dieser Beweis wird uns wohl auch die Anerkennung Petterssons für die Richtigkeit unserer Annahme verschaffen.

Wir müssen also die wiederholten Angriffe Petterssons als völlig unberechtigt und unbegründet zurückweisen und unsere Ansicht, daß die isolierten Meerschweinchenleukocyten Choleravibrionen abtöten, in vollem Maße aufrecht erhalten.

Nachdruck verboten.

Studien über Serumanaphylaxie.

[Aus dem chemisch-bakteriologischen Institut von Dr. Ph. Blumenthal, Moskau.]

Von **S. Fein.**

Zum Zustandekommen der anaphylaktischen Reaktion sind bekanntlich mindestens zwei Seruminjektionen erforderlich, eine, die Erstinjektion, die das Tier überempfindlich macht, und die andere, die die toxische Wirkung auslöst. Da die Reaktion spezifisch ist und beide Injektionen mit derselben Serumart ausgeführt werden, so taucht die Frage auf, ob die Stoffe, welche anaphylaktisierend wirken, identisch sind mit denjenigen, welche die Anaphylaxiesymptome auslösen. Mit keinerlei chemischen oder physikalischen Mitteln ist es bisher gelungen, die anaphylaktisierende oder toxische Eigenschaft des Serums aufzuheben. Doch existiert ein Umstand, der auf die Verschiedenheit beider Stoffe hinweist, nämlich das Verhalten gegenüber der Temperatur. Alle Versuche ergaben das übereinstimmende Resultat, daß das Serum beim Erwärmen auf 100°, ja sogar auf 120° seiner anaphylaktisierenden Eigenschaft nicht verlustig geht. Was aber die toxischen Stoffe anlangt, so verlieren sie ihre Wirksamkeit bei $^1/_2$-stündiger Erwärmung auf 100°, während bei 60° kein Einfluß zu bemerken ist. Letztere Angabe stößt jedoch auf manchen Widerspruch. So hat sich neuerdings Besredka (1—4) mit dieser Frage beschäftigt und in einer Reihe von Experimenten festgestellt, daß die toxischen Stoffe des Serums (die Antisensibilisine) durch Erwärmen auf 100° ihre Eigenschaften völlig verlieren; auch Erwärmen auf 60° wirkt etwas abschwächend, während dreimaliges Erwärmen auf 58° 3 Tage lang je 1 Stunde täglich die Toxizität des Serums auf $^1/_3$ ihrer ursprünglichen Stärke herabzusetzen vermag.

Eine Bestätigung der Besredkaschen Angaben finden wir in der jüngst erschienenen Arbeit von R. Kraus und R. Volk (2), in der sie sich dahin äußern, daß auf 90° erhitztes Serum weder bei passiv noch bei aktiv anaphylaktisierten Tieren Anaphylaxie auszulösen vermag.

E. P. Pick und T. Yamanouchi (3) halten die Differenzierung beider Komponenten des Serums vermittelst der Temperatureinwirkung für nicht begründet, da es ihnen mitunter gelungen ist, mit Sera, welche

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

tiefgehende chemische Eingriffe durch Pepsin- und Trypsinverdauung, Nitrierung und Jodierung usw. erlitten hatten und sodann aufgekocht wurden, sensibilisierende und toxische Wirkungen zu erzeugen. Ich will nicht näher auf diese Einwände eingehen, erachte jedoch das oben bezeichnete Verhalten beider Komponenten des Serums gegenüber der Temperatureinwirkung für nicht widerlegt, da Pick und Yamanouchi bei ihren Versuchen nicht mit nativem Serum, sondern mit modifiziertem arbeiteten.

Mich interessierten die Angaben von Besredka in praktischer Hinsicht, ob denn wirklich die Sera durch dreimaliges Erwärmen auf 58° ihre Toxizität bedeutend einbüßen. Nebenbei untersuchte ich auch einige Erscheinungen der Anaphylaxie, die mir bei meinen Experimenten aufstießen.

Was nun die Frage betrifft, ob Sera, welche für Meerschweinchen weniger toxisch sind, sich auch bei ihrer Anwendung am Menschen als weniger toxisch erweisen, so ist sie noch nicht befriedigend gelöst, da wir noch über sehr wenige dahingehende statistische und klinische Beobachtungen verfügen. Bis dahin schließe ich mich der Ansicht von Besredka an, welcher Sera, die für Tiere sehr stark toxisch sind (schon bei einer Dosis von weniger als $^1/_{20}$ ccm), beim Menschen anzuwenden nicht empfiehlt. Zu meinen Versuchen benutzte ich Diphtherieheilserum von 10 Pferden, die zu verschiedenen Zeiten entblutet worden waren.

Ich nahm nur solche Meerschweinchen, welche zur Wertbestimmung des Diphtherieserums nach Ehrlich gedient hatten. Durch mehrere Vorversuche überzeugte ich mich, daß Meerschweinchen, die mindestens 20—21 Tage vorher mit Serumeinspritzungen zwecks Wertbestimmung vorbehandelt waren, für die Erzeugung der Anaphylaxie am geeignetsten sind. Was nun die Applikation des Serums anlangt, so habe ich nach Besredkas Vorgang die subdurale Injektion gewählt. Diese Methode ergab mir zufriedenstellende, gleichmäßige Resultate und ermöglichte es, quantitativ zu arbeiten. Meine Versuche zeigten mir, daß die Menge des Impfmaterials $^1/_4$ ccm nicht überschreiten darf, diese Menge läßt sich bequem einspritzen, ohne irgendwelche sichtliche Schädigung des Gehirns hervorzurufen. Die Krankheitssymptome zeigen ein ungetrübtes Bild. Auch mache ich die Impfungen immer rein subdural, nicht intracerebral.

Folgende Tabelle I zeigt die Resultate meiner Versuche über den Einfluß des dreimaligen Erwärmens des Serums auf die Erscheinungen der Anaphylaxie.

Um die Resultate der eben angeführten Tabelle in ein helleres Licht zu rücken, habe ich die Daten betreffend die letalen Dosen in folgender Tabelle II nebeneinander gestellt.

Wie aus Tabelle II ersichtlich, war in 3 Fällen die Dosis letalis des erwärmten Serums gegenüber der des nicht erwärmten Serums nicht merklich verändert, in 5 Fällen war die Dosis letalis des erwärmten Serums bedeutend größer (die Toxizität demnach herabgesetzt), in 2 Fällen hingegen hatte eine Steigerung der Toxizität bei der Erwärmung des Serums stattgefunden. Aus diesen Versuchen geht somit hervor, daß dreimaliges Erwärmen die Giftigkeit des Serums herabzusetzen vermag.

Das Versuchsergebnis mit dem Serum vom Pferde No. 371 hat eine Bestätigung einige Tage später gefunden, als ich eine gleiche Menge

Tabelle I.

No. des Pferdes	Nicht erwärmtes Serum			Erwärmtes Serum		
	No. des Meerschweinchens	Dosis des injizierten Serums	Resultat	No. des Meerschweinchens	Dosis des injizierten Serums	Erfolg
288	1	$^1/_4$ ccm	†	5	$^1/_4$ ccm	†
	2	$^1/_8$ „	heftige Symptome, bleibt am Leben	6	$^1/_8$ „	lebt
	3	$^1/_8$ „	dgl.			
	4	$^1/_{16}$ „	schwache Sympt., bleibt am Leben			
289	7	$^1/_4$ „	†	10	$^1/_4$ „	†
	8	$^1/_8$ „	lebt	11	$^1/_8$ „	†
	9	$^1/_8$ „	dgl.	12	$^1/_8$ „	†
371	13	$^1/_4$ „	†	15	$^1/_4$ „	†
	14	$^1/_8$ „	lebt	16	$^1/_8$ „	†
				17	$^1/_{16}$ „	†
372	18	$^1/_{16}$ „	†	20	$^1/_{16}$ „	†
	19	$^1/_{32}$ „	lebt	21	$^1/_{32}$ „	lebt
373	22	$^1/_8$ „	†	27	$^1/_{16}$ „	†
	23	$^1/_{16}$ „	†	28	$^1/_{32}$ „	lebt
	24	$^1/_{32}$ „	†			
	25	$^1/_{32}$ „	†			
	26	$^1/_{64}$ „	lebt			
374	29	$^1/_4$ „	†	31	$^1/_4$ „	lebt
	30	$^1/_8$ „	lebt			
375	32	$^1/_4$ „	†	34	$^1/_4$ „	†
	33	$^1/_8$ „	†	35	$^1/_8$ „	lebt
376	36	$^1/_{16}$ „	†	38	$^1/_{16}$ „	†
	37	$^1/_{32}$ „	lebt	39	$^1/_{32}$ „	lebt
377	40	$^1/_4$ „	†	43	$^1/_4$ „	†
	41	$^1/_8$ „	†	44	$^1/_8$ „	lebt
	42	$^1/_{16}$ „	lebt	45	$^1/_{16}$ „	dgl.
379	46	$^1/_4$ „	†	50	$^1/_4$ „	lebt
	47	$^1/_8$ „	lebt	51	$^1/_4$ „	(intracerebral) lebt
	48	$^1/_8$ „	intracerebral, † nach 1 Stunde			
	49 Kontrolltier	$^1/_8$ „	lebt			

Tabelle II.

No. des Pferdes	Dosis letalis	
	für nicht erwärmtes Serum	für erwärmtes Serum
238	$^1/_4$ ccm	$^1/_4$ ccm
372	$^1/_{16}$ „	$^1/_{16}$ „
376	$^1/_{16}$ „	$^1/_{16}$ „
373	$^1/_{32}$ „	$^1/_{16}$ „
374	$^1/_4$ „	größer
375	$^1/_8$ „	$^1/_4$ ccm
377	$^1/_8$ „	$^1/_4$ „
379	$^1/_8$ „	mehr als $^1/_4$ ccm
289	$^1/_4$ „	$^1/_8$ ccm
371	$^1/_4$ „	$^1/_8$ „

Serum aufs neue erwärmte und am Meerschweinchen genau das gleiche Resultat erzielte.

Ein derartiger Ausfall des Versuches kann nun auf zweierlei Weise erklärt werden:

1) In dem erwärmten Serum des Pferdes No. 371 hat sich ein neuer Stoff gebildet, der die Auslösung der anaphylaktischen Erscheinungen befördert.

2) Im Serum dieses Pferdes ist eine Substanz thermolabiler Natur enthalten, die die Auslösung der Anaphylaxie verhindert; wird das Serum erhitzt, so zerfällt dieser Stoff, und die Toxizität des Serums wird dadurch erhöht.

Ich versuchte zunächst, diese Erscheinung auf quantitativem Wege näher zu studieren. Ich mischte $^1/_2$ Dosis letalis nicht erwärmten Serums vom Pferd No. 371 mit einer ganzen Dosis letalis erwärmten Serums und verimpfte dieses Gemisch subdural einem vorbehandelten Meerschweinchen. Man hätte erwarten können, daß, falls im erwärmten Serum ein die Toxizität steigernder Stoff vorhanden ist, das Gemisch den Tod des Tieres hervorrufen werde. In der Tat war dies jedoch nicht der Fall, das Meerschweinchen blieb am Leben. Dieser Umstand spricht eher dafür, daß im nicht erwärmten Serum dieses Pferdes eine Substanz enthalten ist, die auf die Anaphylaxieauslösung hemmend wirkt. Um diese Annahme noch besser stützen zu können, unternahm ich folgenden Versuch: Eine Dosis letalis vom Serum des Pferdes No. 373 ($^1/_{32}$ ccm) mischte ich mit $^1/_8$ Dosis letalis (d. h. $^1/_{32}$ ccm) vom nicht erwärmten Serum des Pferdes No. 371 und impfte das Gemisch einem vorbehandelten Meerschweinchen ein. Das Tier blieb am Leben. Folglich ist im Serum des Pferdes No. 371 in der Tat ein Stoff enthalten, der die Toxizität des Serums von einem anderen Pferde herabzusetzen vermag.

Diese interessante Tatsache halte ich durch meine an Zahl geringen Versuche für lange noch nicht genügend aufgehellt. Zu ihrer endgültigen Klarlegung sind weitere eingehende Experimente erforderlich, die noch in anderen Richtungen angestellt werden müssen. Leider habe ich aus äußeren Gründen meine Untersuchungen unterbrechen müssen, gedenke aber, demnächst sie wieder aufzunehmen.

Zum Schluß möchte ich einige Experimente über Anaphylaxieimmunität anführen, die ich nebenbei unternommen habe, weil die von Besredka empfohlene subdurale Applikationsmethode so sehr bequem

Tabelle III.

Meerschweinchen No.	Zeit der Nachprüfung	Serumdosis		Resultat
1	nach 10 Minuten	$^1/_8$ ccm	subdural	† sofort
2	„ 10 „	$^1/_4$ „	dgl.	lebt
3	„ 5 „	3 „	intraperitoneal	dgl.
4	„ 20 „	$^1/_4$ „	subdural	„
5	„ 2 Stunden	$^1/_4$ „	dgl.	„
6	„ 1 Stunde	$^1/_4$ „	dgl.	„
7	„ 30 Minuten	5 „	intraperitoneal	„
8	„ 15 „	5 „	dgl.	„
9	„ 1 Stunde	$^1/_4$ „	subdural	„ (keine Symptome)
10	„ 20 Minuten	$^1/_4$ „	dgl.	lebt (keine Symptome)

ist und es gestattet, die Ergebnisse in kürzester Zeit zu beobachten. Zu diesen Experimenten benutzte ich Meerschweinchen, die der Anaphylaxieprüfung gedient hatten, und die ich zu verschiedenen Zeiten der Nachprüfung durch nochmalige Injektion unterzog.

Aus der Tabelle III erhellt, daß kurze Zeit nach Ablauf der Anaphylaxieerscheinungen eine Immunität sich bemerkbar macht.

Literatur.

1) **Besredka**, Du mécanisme de l'anaphylaxie vis-à-vis du sérum de cheval. (Annal. de l'Instit. Pasteur. 1908. p. 496.)
2) **Kraus**, R. und **Volk**, R., Zur Frage der Serumanaphylaxie. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 1. 1909. p. 676.)
3) **Pick** und **Yamanouchi**, Chemische und experimentelle Beiträge zum Studium der Anaphylaxie. (Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Orig. Bd. 1. 1909.)
4) **Besredka**, A., De l'Anaphylaxie sérique expérimentale. (Bullet. de l'Instit. Pasteur. 1908. No. 19–21.)

Nachdruck verboten.

Berichtigung der Behauptungen des Herrn Dr. Icilio Bocchia in seinem Aufsatz „Die Pyocyanase“,

Bd. 50. p. 220 dieser Zeitschrift.

Von Dr. **Rudolf Emmerich**, Professor an der Universität München.

Bocchia kommt in seiner Arbeit zu dem Urteil, daß die therapeutische Wirksamkeit der Pyocyanase sehr schwach ist, und daß sich dieses Präparat für praktische Zwecke nicht empfiehlt.

Dieses Urteil muß als völlig unzutreffend abgelehnt werden, und zwar aus folgenden Gründen:

1) Bocchia hat in seinen Untersuchungen gar nicht die Pyocyanase von Emmerich und Löw untersucht, wie sie im Handel zu haben ist, sondern eine selbstbereitete, filtrierte, 4—5 Wochen alte Bouillonkultur.

2) Die von ihm angewendete Methodik würde in jeder ihrer einzelnen Phasen die verwendeten Testobjekte auch bei Abwesenheit jedes bakterientötenden Agens vernichtet haben. Ungeachtet dieser Tatsachen sollen sich nach einer 2—4-tägigen Einwirkung der angeblichen Pyocyanase sogar Meningokokken und Choleravibrionen noch entwickelt haben. Dieser Befund steht im schärfsten Gegensatz zu dem, was über die Lebensdauer und Resistenz der erwähnten Bakterien jedem Fachmann bekannt ist.

3) Die durchaus fehlerhafte Arbeit von Bocchia muß deshalb wegen der absolut unzulänglichen Ausführung und insbesondere wegen der ganz unbegründeten Verallgemeinerung der Schlüsse als gänzlich wertlos entschieden abgelehnt werden.

Nachdruck verboten.

Vergleichende Untersuchungen zwischen dem gegen Lyssa immunisierenden Vermögen der normalen Nervensubstanz und des Pasteurschen Vaccins bei Muriden.

[Aus dem Hygienischen Institut der Universität Sassari.]

Von Dr. med. **R. Repetto.**

In einer ausführlichen Untersuchungsreihe hatte Fermi nachgewiesen, daß bei Muriden, im Gegensatz zu den übrigen Versuchstieren, kein Unterschied zwischen dem immunisierenden Vermögen der normalen Nervensubstanz und demjenigen des Pasteurschen Impfstoffes gegen die subkutane Einführung des Straßenvirus besteht. Fermi fand an den Muriden beinahe keinen Unterschied zwischen beiden Nervensubstanzen, sowohl wenn sie bei der gewöhnlichen 5- und 10-proz. Konzentration oder auch bei starker Verdünnung (d. h. von 1 Prom. bis 1 pro 40000) geprüft waren, als wenn ihr immunisierendes Vermögen durch Erwärmung auf 100°—75° C während 30—15 Minuten abgeschwächt worden war, wenn sie als solche oder nach vorheriger Behandlung mit 3-prom. HCl-Lösung per os oder per anum eingeführt wurden, wie schließlich, wenn verschiedenerweise und zu wiederholten Malen das immunisierende Vermögen oder das lyssizide Vermögen (in vitro) des Serums der mit den genannten Stoffe behandelten Tiere verglichen wurde.

Ich nahm mir nun vor, das immunisierende Vermögen der frischen normalen Nervensubstanz mit dem Pasteurschen Vaccin zu vergleichen, indem ich die Behandlung mit diesen Stoffen sowohl sofort, als auch 3 Tage nach der subkutanen Infektion mit Straßenvirus begann.

Als normale Nervensubstanz wählte ich das Lammgehirn und als rabische Nervensubstanz das fixe Kaninchenvirus.

Die Emulsionen waren 5-proz. Die Austrocknung des fixen Virus wurde nur 3 Tage über Kali und bei der Temperatur von 20° C fortgesetzt, mit dem Zwecke, die normale Nervensubstanz mit dem wirksamsten Pasteurschen Vaccin zu vergleichen.

Im folgenden sind nun summarisch die von mir ausgeführten Versuche angegeben:

A. Die Impfung wurde sofort nach der Infektion begonnen.

a) Normale Nervensubstanz.

Versuch vom 15. Sept. 1907. 10 weiße Ratten, subkutan mit Straßenvirus infiziert, werden zwei Injektionen täglich für 15 Tage von je 1 ccm einer 5-proz., mit Phenol behandelten Emulsion frischen Gehirns aus gesundem Lamm gemacht.

Ergebnisse. Die eine Ratte wurde am 18. Sept., d. h. 3 Tage nach dem Beginn der Immunisierung, eine zweite am 19. Sept., d. h. 4 Tage nach dem Beginn der Immunisierung, tot vorgefunden. 2 andere wurden von den Genossen gefressen, während die übrigen 6 überlebten. Sieht man von den 4, nicht an Lyssa gestorbenen Tieren ab, so hätte die Nervensubstanz des Lammes die Tiere in einem Verhältnis von 100 auf 100 gerettet.

b) Pasteursches Vaccin.

Versuch vom 15. Sept. 1907. 10 weiße Ratten, wie oben infiziert, erhalten täglich zwei Injektionen 1 ccm einer phenolhaltigen, 5-proz. Emulsion vom 3. Tage auf Kali bei der Temperatur von 20° C ausgetrockneten Gehirns von lyssakranken (fixes Virus) Kaninchen.

Ergebnisse. 2 wurden am 16. Sept., d. h. 1 Tag nach dem Beginn der Immunisierung, tot vorgefunden; 2 weitere wurden von den Genossen gefressen, und die übrigen 6 überlebten. Abgesehen von den 4, auch hier nicht an Lyssa verstorbenen Tieren, hätte das Pasteursche Vaccin ebenfalls 100 auf 100 Tiere gerettet, ohne daß es also irgendwelche Ueberlegenheit im Vergleich zur normalen Nervensubstanz erwies.

B. Die Impfung wurde 3 Tage nach der Infektion begonnen.

a) Normale Nervensubstanz.

Versuch vom 15. Sept. 1907. 9 weiße Ratten erhalten während 15 Tage, vom 3. Tage an nach der Infektion mit Straßenvirus täglich zwei Injektionen von je 1 ccm einer 5-proz., phenolhaltigen Emulsion frischen Gehirns vom gesunden Lamm.

Ergebnisse. 2 zeigten am 16. Sept. 7 Uhr vormittags Lähmung und starben am selben Tage um 7 Uhr nachmittags. Ein drittes zeigte Lähmung am 3. Okt. um 8 Uhr abends und starb am 5. Okt. um 8 Uhr abends. Die übrigen 6 überlebten. Die normale Nervensubstanz rettete also 6 Tiere unter 9, in dem Verhältnis also von 66 Proz.

b) Pasteursches Vaccin.

Versuch vom 1. Sept. 1907. 9 weiße Ratten erhalten während 15 Tage, vom 3. Tage an nach der Infektion mit Straßenvirus, zwei Injektionen täglich 1 ccm einer 5-proz. Emulsion von während 3 Tage auf Kali bei 20° C ausgetrocknetem Gehirn von an Lyssa (fixes Virus) kranken Kaninchen.

Ergebnisse. 2 Tiere zeigten die Lähmung am 16. Sept. um 7 Uhr vormittags und starben am gleichen Tage um 7 Uhr nachmittags; 2 andere zeigten die Lähmung am 16. Sept. um 10 Uhr vormittags und starben am selben Tage um 4 Uhr nachmittags. Die übrigen 5 überlebten.

Die getrocknete rabische Nervensubstanz rettete aber 5 unter 9 Tieren, d. h. in einem Verhältnisse von 55 Proz.

Kontrollversuch am 1. Sept. 1907. 3 weiße Ratten wurden mit Straßenvirus subkutan infiziert.

Ergebnis. Die 3 Tiere zeigten am 16. Sept. um 7 Uhr vormittags Lähmung und starben alle 3 am gleichen Tage um 4 Uhr nachmittags.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich also folgendes:

1) Im Einklang mit den von Fermi nachgewiesenen Tatsachen erweist die frische normale Nervensubstanz des Lammes an den Muriden dasselbe immunisierende Vermögen, wie das Vaccin Pasteurs.

2) Die frische normale Nervensubstanz des Lammes zeigte ein höheres immunisierendes Vermögen, als das wirksamste Pasteursche Vaccin (3 Tage lang ausgetrocknetes fixes Virus). Wurde die Behandlung 3 Tage nach der Infektion begonnen, so rettete die normale frische Nervensubstanz 66 Proz. der Tiere, während dagegen das Vaccin nur 55 Proz. davon rettete.

Somit wird also noch einmal wieder bestätigt, daß bei den Muriden die frische normale Nervensubstanz ein gleiches, wenn nicht ein höher immunisierendes Vermögen zeigt, wie das Vaccin Pasteurs.

3) Wurde die Behandlung sofort begonnen, so wurden 100 auf 100 der mit Straßenvirus infizierten Muriden gerettet. Wurde dieselbe dagegen 3 Tage später angefangen, so erfolgte eine Rettung nur bei etwas mehr als der Hälfte (d. h. 55 Proz. bezw. 66 Proz.).

4) Es scheint ferner seltsam, daß unter den verschiedenen Forschern, welche sich vornahmen, diese überaus wichtige Tatsache nachzuprüfen, daß den Muriden die eigene Fähigkeit in so hohem Maße zukommt, sich gegen die subkutane Infektion des Straßenvirus mittels normaler Nervensubstanz von Säugetieren immunisieren zu lassen, keiner an Muriden experimentiert hat.

Der Versuch von Kraus, an einigen Ratten angestellt, besitzt darum keinen Wert, weil er die Tiere mit fixem Virus und nicht mit Straßenvirus impfte.

Hinsichtlich der Behauptung Krayuschkins und Babes endlich, daß nämlich eine 1-proz. Phenöllösung das Lyssavirus nicht abtötet, glaube ich nicht weiter darauf eingehen zu dürfen, da diese Autoren auf subduralem, anstatt auf subkutanem Wege experimentiert haben. — Auch M. 3—6 des Pasteurschen Impfstoffes sind nur auf subduralem Wege virulent.

Obwohl an tausend Menschen und empfindliche Tiere die große Menge Fermischen Impfstoffes bekommen haben, ist nie ein Fall von Lyssa entstanden.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung einiger chemischer Stoffe auf das fixe Virus.

[Pasteursches Institut zu Sassari.]

Von Prof. **Umberto Cano.**

Einige von Marie[1]) im Pasteurschen Institut zu Paris bei der Untersuchung der Wirkung des Methylenblau, der Salzsäure und der Essigsäure auf das fixe Virus erzielte Resultate stimmen nicht überein mit denen, die im hiesigen Institute bei Versuchen auf subkutanem Wege an einer größeren Anzahl von Tieren (Muriden), die dem fixen Virus von Sassari gegenüber nicht weniger empfänglich sind als die sub dura behandelten Kaninchen, erzielt wurden.

In diesen Versuchen ist es besser, soweit es möglich ist, stets den subkutanen Weg zu wählen, da man auf diese Weise eine größere Menge chemischer Stoffe einführen kann, welche sub dura nicht ertragen würden.

Da außerdem es auch der Fall sein könnte, daß das der Wirkung einiger Stoffe ausgesetzte fixe Virus sich nur in dem Maße abschwächt, daß es seine Virulenz auf subkutanem Wege verliert, dieselbe aber auf subduralem Wege noch bewahrt, so nahm ich mir vor, nicht nur an Muriden, sondern auch an Kaninchen und Hunden die Versuche sub dura anzustellen.

Die von mir in dieser Beziehung vorgenommenen Forschungen sind kurz folgende:

---

1) Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1907.

Salzsäure.

Versuche mit Mäusen.

Versuch 1. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man $^{2}/_{10}$ ccm einer Lösung von Salzsäure zu 1 Proz., und nach 30 Minuten wird $^{1}/_{4}$ ccm dieser Mischung subkutan einer Maus eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. wird $^{1}/_{10}$ ccm einer Lösung von Salzsäure zu 1 Proz. hinzugefügt, und nach 30 Minuten wird $^{1}/_{4}$ ccm der Mischung subkutan einer Maus eingespritzt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Schlußfolgerung. Die Salzsäure hätte somit auf subkutanem Wege bei Mäusen das fixe Virus von Sassari im Verhältnis von 1:5100 und selbst von 1:10000 inaktiviert.

Versuche mit Hunden.

Versuch 1. 1 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man $^{2}/_{10}$ ccm einer Lösung von Salzsäure zu 1 Proz. hinzu, und nach 30 Minuten wird von der Mischung $^{1}/_{4}$ ccm subkutan einem Hunde eingespritzt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2. 1 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. wird $^{1}/_{10}$ ccm einer Lösung von Salzsäure zu 1 Proz. hinzugefügt und nach 30 Minuten wird $^{1}/_{4}$ ccm der Mischung einem Hunde subkutan eingespritzt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Schlußfolgerung: Die geringste wuttötende Dosis der Salzsäure war nicht, wie **Marie** schreibt, 1:1000, sondern 1:10000.

Essigsäure.

Versuche mit Mäusen.

Versuch 1. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man $^{8}/_{10}$ ccm Essigsäure zu 2 Proz., und nach 30 Minuten wird $^{1}/_{4}$ der Mischung einer schwarzen Maus subkutan eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus fügt man $^{4}/_{10}$ ccm Essigsäure zu 2 Proz., und nach 30 Minuten wird $^{1}/_{4}$ der Mischung einer Maus subkutan eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Schlußfolgerung: Die Essigsäure hätte folglich das obenerwähnte fixe Virus inaktiviert im Verhältnis von 1:2600, und zwar durch Einimpfung von Mäusen auf subkutanem Wege.

Versuche mit Hunden.

Versuch 1. 1 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. wurden $^{8}/_{10}$ einer Lösung von Essigsäure zu 2 Proz. hinzugefügt, und nach 30 Minuten wird $^{1}/_{4}$ ccm der Mischung einem Hunde sub dura eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2. 1 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. werden $^{4}/_{10}$ einer Lösung von Essigsäure hinzugefügt, und nach 30 Minuten wird $^{1}/_{4}$ ccm der Mischung einem Hunde sub dura eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Schlußfolgerung: Die geringste wuttötende Dosis der Essigsäure war nicht 5 Proz., wie **Marie** schreibt, sondern 1:675 und vielleicht auch 1:13000.

Methylenblau.

Versuche mit Ratten.

Versuch 1. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man 1 ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz., und nach 30 Minuten wird $^{1}/_{2}$ ccm der Mischung subkutan einer Ratte eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2. Zu 10 ccm der gleichen Emulsion von fixem Virus fügt man $^5/_{10}$ ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz., und nach 30 Minuten wird $^1/_2$ ccm dieser Mischung einer schwarzen Ratte subkutan eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 3. Zu 10 ccm derselben Emulsion von fixem Virus fügt man $^1/_{10}$ ccm einer wässerigen Lösung zu 1 Proz. von Methylenblau zu 1 Proz., und nach 30 Minuten wird $^1/_2$ ccm der Mischung einer schwarzen Ratte subkutan eingespritzt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Schlußfolgerung: Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Methylenblau das auf subkutanem Wege den Ratten eingeimpfte fixe Virus von Sassari selbst im Verhältnis von 1:5100 inaktiviert.

Versuche mit Mäusen.

Versuch 1. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man 1 ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz., und nach 30 Minuten wird $^1/_4$ ccm der Mischung einer Maus subkutan eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man $^5/_{10}$ einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz., und nach 30 Minuten wird $^1/_4$ ccm dieser Mischung einer schwarzen Maus subkutan eingespritzt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 3. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man $^1/_{10}$ einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz., und nach 30 Minuten wird $^1/_4$ ccm dieser Mischung einer schwarzen Maus subkutan eingespritzt.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Schlußfolgerung: Aus diesen Versuchen geht hervor, daß das Methylenblau das erwähnte, das Mäusen subkutan eingespritzte fixe Virus im Verhältnis inaktiviert.

Versuche mit Kaninchen.

Versuch 1. 1 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. wird 1 ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz. hinzugefügt, nach 48 Stunden wird $^1/_5$ ccm der Mischung einem Kaninchen sub dura eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2. 1 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. werden $^5/_{10}$ ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz. hinzugefügt, und nach 2 Stunden wird $^1/_5$ ccm der Mischung einem Kaninchen sub dura eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 3. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man 1 ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz., und nach 30 Minuten wird $^1/_5$ ccm der Mischung einem Kaninchen sub dura eingeimpft.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 4. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. werden $^5/_{10}$ ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz. hinzugefügt, und nach 30 Minuten wird $^1/_5$ der Mischung einem Kaninchen sub dura eingespritzt.

Resultat: Das Tier weist nach 5 Tagen Lähmung auf und verendet am folgenden Tage.

Versuch 5. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. wird $^1/_{10}$ ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau zu 1 Proz. hinzugefügt, und nach 30 Minuten $^1/_5$ der Mischung einem Kaninchen sub dura eingespritzt.

Resultat: Das Tier weist nach 4 Tagen Lähmung auf und verendet.

Versuche am Hunde.

Versuch 1. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man 1 ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau, und nach 30 Minuten impft man $^1/_4$ ccm der Mischung einem Hunde sub dura ein.

Resultat: Das Tier bleibt am Leben.

Versuch 2. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man $^5/_{10}$ ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau, und nach 30 Minuten impft man $^1/_4$ ccm der Mischung einem Hunde sub dura ein.

Resultat: Das Tier weist nach 7 Tagen Lähmung auf und verendet.

Versuch 3. Zu 10 ccm einer Emulsion von fixem Virus zu 1 Proz. fügt man $^1/_{10}$ ccm einer wässerigen Lösung von Methylenblau (1 Proz.), und nach 30 Minuten impft man $^1/_4$ ccm einem Hunde sub dura ein.

Resultat: Das Tier weist nach 7 Tagen Lähmung auf und verendet am folgenden Tage.

Schlußfolgerung: Das Methylenblau (wässerige Lösung zu 1 Proz.) ist im Gegenteil zu dem, was Marie gefunden hatte, mit wuttötender Wirkung begabt. Während dieser Verf. keine Wirkung dieser Stoffe im Verhältnis von 1 ccm auf 1 ccm fixes Virus, nicht einmal nach einem Kontakte von 48 Stunden nachweisen konnte, beweisen die von mir angestellten Versuche, daß dieselben noch im Verhältnis von 1:1100 während eines kurzen Kontaktes von 30 Minuten noch aktiv sind.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß in den von Marie angestellten Versuche irgendein Teilchen vom fixen Virus der Wirkung des Methylenblau entgangen ist; was der Fall sein kann, wenn das fixe Virus nicht gut emulsioniert wurde, oder wenn die Emulsion nicht intim und vollständig mit dem Methylenblau vernichtet worden ist.

Anhang.

Wirkung der Karbolsäure auf das fixe Virus.

Krajuschkin[1] und Babes[2] schreiben in ihren veröffentlichten Abhandlungen, daß die 1-proz. Karbolsäure nicht imstande ist, das fixe Virus zu töten oder zu schwächen.

Da diese Tatsache im Widerspruche steht mit allem, was man über die Wirkung der 1-proz. Karbolsäure sowohl auf das Wutvirus, als auch auf die Mikroorganismen kennt, fühlte ich mich veranlaßt, die Versuche des Verf. zu wiederholen. Da es nun der Fall sein konnte, daß das fixe Virus von der Karbolsäure nur geschwächt wurde in einer Weise, die es per viam subcutaneam inaktiv macht, wollte ich dieselbe auch auf subduralem Wege versuchen, und in derselben Weise, wie es Krajuschkin und Babes getan haben. Da es mir unmöglich schien, daß die 1-proz. Karbolsäure nicht einmal nach 10—12 Tagen imstande sei, das Virus abzuschwächen, so wollte ich dieselbe sofort nach einer einstündigen Wirkung versuchen, indem ich mich auf diese Weise in für Krajuschkin sehr günstige Bedingungen versetzte.

Am 26. Mai 1909 impfte ich also 2 Kaninchen sub dura mit der Mischung einer 5-proz. Emulsion von fixem Virus und 1-proz. Karbolsäure nach einem Kontakte von einer Stunde. 2 andere Kaninchen wurden mit der gleichen Mischung geimpft, nur mit dem Unterschiede, daß die Emulsion des fixen Virus 10-proz. war. Endlich wurden 10 Mäuse subkutan geimpft.

Das Resultat war, daß die 2 ersten Kaninchen mit den 10 Mäusen am Leben blieben und auch heute nach einem Monate noch leben, und daß die 2 letzten Kaninchen zugrunde gingen.

Die 1-proz. Karbolsäure also macht, wie Fermi schon nachgewiesen hatte, selbst nach einer Stunde, sicher das Wutvirus, auch in der Emulsion zu 5—10 Proz. auf subkutanem Wege unwirksam.

Der Fermische Impfstoff ist daher vollständig unschädlich.

Sassari, 25. Juli 1909.

---

[1] Krajuschkin, Deutsche med. Wochenschr. 1909. No. 19.

[2] Babes, Compt. rend. Soc. Biol. Bukarest 1908.

Nachdruck verboten.

Die Reaktion der Komplementbindung (Bordet-Gengou) bei Ileotyphus[1].

[Aus dem Laboratorium und der Klinik des Prof. Sirotinin der Kaiserl. Militärmedizinischen Akademie in St. Petersburg.]

Von Privatdoz. **S. J. Zlatogoroff.**

Die im Jahre 1898 von Bordet entdeckten künstlichen Hämolysine sind in der Lehre von der Immunität epochemachend geworden, und die praktische Bedeutung dieser Entdeckung ist von der größten Tragweite. Bordet hat nicht nur das allgemeine biologische Gesetz der Reaktion des Organismus auf die Einführung fremder Erythrocyten gezeigt, sondern auch die komplizierte Beschaffenheit der Hämolysine bewiesen. Wenn man durch allmähliche Immunisation hämolytisch gewordenes Serum eines Kaninchens eine halbe Stunde lang auf 55° erwärmt, so verliert es die Fähigkeit, Erythrocyten zu hämolysieren, es wird inaktiv. Wenn wir aber zu diesem inaktiv gemachten Serum das Serum von einem anderen Tiere (das selbständig nicht hämolysiert) hinzufügen, so gewinnt es die verlorene Fähigkeit, die Erythrocyten zu hämolysieren, wieder. Nun hat Bordet angenommen, daß hämolytisches Serum zwei wirksame Faktoren enthält. Der eine, der beim Erhitzen auf 55° verschwindet und durch Hinzufügen von Serum eines anderen Tieres ersetzt werden kann, ist nicht spezifisch, weil in jedem beliebigen Serum vorkommend. Verschiedene Autoren nennen ihn verschieden: Alexin, Cytase, Komplement.

Der zweite wirksame Faktor, der beim Erhitzen nicht verschwindet, ist streng spezifisch für den gegebenen Organismus, er bildet sich im Blute nur durch allmähliche Immunisation und heißt substance sensibilisatrice, Ambozeptor, Fixator, Immunkörper. Die von Bordet entdeckten Fakten wurden durch die deutsche Schule von Ehrlich bestätigt, nur in ihrer Erklärung stimmen diese Autoren nicht überein. Bordet ist der Meinung, daß die stabile substance sensibilisatrice wie ein Aetzmittel wirkt und die Erythrocyten zur Empfänglichkeit für das Alexin vorbereitet. Nach Ehrlichs Theorie der Seitenketten verkettet sich die stabile, beim Erhitzen nicht verschwindende Substanz einerseits mit dem Rezeptor der Erythrocyten, andererseits mit dem labilen Komplement. Nur bei Vereinigung dieser drei Substanzen kommt die Hämolyse resp. die Bakteriolyse zustande. Die Substanz, welche im Organismus die Erscheinung der Ambozeptoren (Immunkörper) bewirkt, heißt Antigen. Diese Fähigkeit des Organismus, auf die Einführung von Antigen mit der Bildung von Antikörpern zu reagieren, wurde von Bordet im Jahre 1901 für diagnostische Zwecke benutzt. Die Grundsätze der Bordet-Gengouschen Reaktion wurden in den Annales de l'Institut Pasteur (Bd. 15. 1901) veröffentlicht, in der Arbeit, welche aus dem Laboratorium Metschnikoffs erschien: „Sur l'existence des substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens.“

---

[1] Ein Teil der Fakta wurde der Mikrobiologischen Gesellschaft in St. Petersburg am 30. Januar 1909 mitgeteilt.

Wenn wir die Erythrocyten eines Kaninchens mit dem hämolytischen inaktivierten Serum bearbeiten, d. h. die Erythrocyten sensibilisieren, so kommt bei der Zufügung des frischen Blutes eines Meerschweinchens (des Komplementes) die Hämolyse zustande. Auch wenn wir die Vibrionen mit dem erwähnten anticholerischen Serum vermischen, verändern sich die Vibrionen gar nicht; setzten wir etwas frisches Blut des Meerschweinchens (Komplement) hinzu, so werden die Vibrionen kugelförmig und werden zerstört. Wenn wir aber zu dem erwähnten Serum eines Meerschweinchens mit anticholerischem Serum sensibilisierte Vibrionen hinzufügen und diese Mischung eine Zeitlang im Thermostaten stehen lassen, so bewirkt die Zufügung der sensibilisierten Erythrocyten keine Hämolyse, und die Vibrionen werden zerstört. So erschien das für die Hämolyse nötige Komplement in Anwesenheit der durch anticholerisches Serum sensibilisierten Vibrionen für die sensibilisierten Erythrocyten untätig und rief die Zerstörung der Vibrionen hervor. Wenn wir aber statt des anticholerischen das normale Serum gebrauchen, so kommt die Hämolyse zustande, d. h. das Komplement, welches mit den nicht sensibilisierten Vibrionen nicht verkettet war, hat seine Wirkung auf die sensibilisierten Erythrocyten in vollem Maße ausgeübt. Im ersten Falle fixierte sich das Komplement auf die Vibrionen und die Hämolyse kam nicht zustande — die Reaktion ist positiv. In dem zweiten Falle bekamen wir die Hämolyse — die Reaktion ist negativ. In dieser Reaktion erscheint die Hämolyse als ein Indikator, der die Anwesenheit der spezifischen Ambozeptoren anzeigt, wie das Bordet und Gengou mit Pest- und Typhussera der Menschen und Tiere bewiesen haben. Die Reaktion hat verschiedene Namen; man nennt sie die Reaktion der Verkettung oder Bindung der Komplemente, oder die Reaktion der Komplementablenkung. Da wir hier in der Hämolyse einen Indikator haben — bekommen wir keine Hämolyse, so ist das Komplement mit dem spezifischen Ambozeptor verkettet — so muß man die Bezeichnung „Komplementbindung“ für richtiger halten.

Schon nach den ersten Mitteilungen von Bordet und Gengou wurde ihre Methode bei verschiedenen Infektionskrankheiten angewandt; besonders großen Erfolg hat sie bei der Syphilisdiagnose dank den Arbeiten von Wassermann-Neisser und Bruck gehabt. Bei Ileotyphus wurde die Bordet-Gengousche Methode von mehreren Autoren probiert, deren Resultate aber gar nicht übereinstimmend sind. Die ersten, welche die Methode nach Bordet benutzt haben, waren Widal und Le Sourd. Der letztere untersuchte das Blut der 41 Typhuskranken, wobei in 58 Fällen die Reaktion positiv ausgefallen ist; die meisten Kranken wurden in der Fieberperiode untersucht. Dr. Georgievsky interessierte die Frage: Wie bald erscheinen die spezifischen Ambozeptoren im Blute der Typhuskranken? Er untersuchte 24 Typhuskranke und zwar 3, die schon lange von dieser Krankheit geheilt waren, und 8 Gesunde. Bei der Anwendung der Bordet-Gengouschen Reaktion hat er in der Fieberperiode nie die Immunkörper gefunden, bei Rekonvaleszenten und denen, die je den Typhus überstanden haben, fand er sie dagegen immer. Deshalb hat er die diagnostische Bedeutung der Methode verneint. Hirschfeld untersuchte 12 an Typhus und 17 an verschiedenen anderen Krankheiten Leidende. Bei allen Typhuskranken war die Reaktion positiv, zuweilen bei negativer Reaktion der Agglutination. Am frühesten kam die Reaktion am 6. Tage zustande. Nach der Meinung dieses Autors, der nach der Methode Wassermanns verfuhr, ist die Reaktion streng spezifisch und kann für die Diagnose des Typhus benutzt werden. Wassermann und Bruck raten, anstatt der Emulsion aus lebendigen Bakterien die Extrakte aus deren Körpern anzuwenden. Mit verschiedenen Serumarten, besonders mit dem Blutserum eines gegen Typhus immunisierten Pferdes, sind sie zu der Meinung gelangt, daß die Reaktion streng spezifisch ist. Moreschi verneint die Spezifität der Bordet-Gengouschen Reaktion, was von Leuchs bestritten wird. Dieser letztere hat mit seinen Versuchen auf Tiere bewiesen, daß man mit den Extrakten der Typhusbacillen ein streng spezifisches Serum für die Bordet-Gengousche Reaktion bekommen kann.

Posner bestätigte die Resultate von Leuchs, was die Spezifität der Reaktion anbetrifft. Er untersuchte 6 Typhusfälle, 2 paratyphöse Sera und zwei Sera von nicht Typhuskranken. Die Versuche wurden nach der Methode Wassermanns angestellt.

Simnicki und Gladin haben 12 Typhuskranke untersucht und sind zu dem Schlusse gelangt, daß die Immunkörper im Blute sehr früh, zuweilen früher als die Agglutinine, erscheinen. Die Verff. konnten die Schlüsse von Georgievsky bezüglich der Abwesenheit der Reaktion in der Fieberperiode nicht bestätigen, aber auch sie fanden die Immunkörper mehrere Monate nach überstandenem Typhus ($7^1/_2$ Monate).

Neufeld und Hüne bestätigten die Spezifität der Reaktion, indem sie das Serum zweier Typhusrekonvaleszenten untersuchten; dabei machten sie die interessante Beobachtung, daß dieses Serum keine bakteriziden Eigenschaften besaß.

Leuchs und Schöne wollten die Reaktion der Komplementbindung beim Ileotyphus kontrollieren. Dabei widmeten sie der Beschaffenheit des Antigens die größte Aufmerksamkeit, das sie auf verschiedene Weise herstellten. Im ganzen haben sie 20 Typhuskranke, einen Bacillenträger und 10 gesunde Personen untersucht. Bei den Gesunden war die Reaktion immer negativ, bei den Typhuskranken war sie nur in zwei Fällen negativ. Wie Hirschfeld beobachteten auch diese Autoren, daß in zwei Fällen diese Reaktion viel früher als die der Agglutination auftrat, und zwar gab in einem Falle am 4., im anderen am 10. Tage die Reaktion der Komplementbindung ein positives Resultat. Zum Schlusse ihrer Arbeit äußerten die Autoren die Vermutung, daß die Immunkörper, welche nach der Methode von Bordet-Gengou entdeckt werden, mit den Agglutininen und den Bakteriolysinen gar nicht identisch sind, obgleich sie in dieser Hinsicht keine systematischen Versuche gemacht haben. Sie betrachten diese Reaktion für den Typhus als relativ spezifisch und mehr als Diagnostikum früher Fälle als die Agglutination geeignet.

Kentzler und Királyfi untersuchten 6 Sera (4 Typhuskranken, 1 einem gesunden Menschen und 1 einem mit Typhusbacillen infizierten Pferde entnommenen) auf die Anwesenheit des spezifischen Ambozeptors. Dabei bestätigten sie die diagnostische Bedeutung der Reaktion; für die genaue Bestimmung der Hämolyse bedienten sie sich eines Hämoglobinometers. Die Autoren machen uns auf alle Vorsichtsmaßregeln, die bei der Reaktion zu ergreifen sind, aufmerksam; sie finden, daß die Reaktion zu kompliziert ist und deshalb nicht sehr gebräuchlich werden kann.

Was die wechselseitige Beziehung zwischen der Reaktion der Komplementfixation der Agglutination und der Bakteriolyse anbetrifft, so sind darüber folgende Meinungen geäußert worden: Leuchs und Schöne und besonders Posner haben einen Zusammenhang und Parallelismus zwischen der Agglutination und der Bordet-Gengouschen Reaktion gefunden. Georgievsky, Widal und Le Sourd, Simnitzki und Gladin und Raskine sind zu den entgegengesetzten Resultaten gekommen.

Ebenso verhält es sich mit dem Zusammenhang zwischen der Reaktion der Komplementfixation und der Bakteriolyse. Bordet betrachtet seine Reaktion als völlig von den Bakteriolysinen abhängend. Neufeld, Hüne und Händel mit ihren Versuchen an Tieren haben diese Abhängigkeit nicht konstatiert. Auch Krumbein und Schatiloff meinen, daß die Reaktion der Komplementbindung in ihren Versuchen mit dem Antimeningokokkenserum nicht von den gewöhnlichen Bakteriolysinen, sondern von den ganz spezifischen Körpern, die Neufeld und Hüne als Antikörper Bordets zu bezeichnen vorgeschlagen haben, abhängt. Auch Raskine, die verschiedene Serumarten bei Typhus untersuchte, bemerkte, daß einige hochagglutinierende Serumarten das Komplement nicht verketten und daß kein Parallelismus zwischen dieser Reaktion und den Bakteriolysinen besteht.

Aus der eben angeführten Literatur sehen wir, daß die meisten Autoren die Bordet-Gengousche Reaktion als sehr gut für die Typhusdiagnose geeignet halten, und einige sie der Agglutination wegen ihrer Genauigkeit vorziehen. Was aber die Fragen anbetrifft, in welcher Periode der Krankheit die Reaktion am besten gebraucht werden kann, in welcher Beziehung sie zu der Agglutination und der Bakteriolyse steht, wie die Reaktion sich quantitativ im Laufe der Krankheit verändert, so sind diese Fragen von einigen Autoren kaum berührt und die Antworten auf sie sind gar nicht übereinstimmend. Deshalb machten wir es uns zur Aufgabe, die diagnostische Bedeutung der Reaktion zu kontrollieren und die eben genannten Fragen zu beantworten.

Der Plan der Arbeit war folgender: Allen Typhuskranken und den Typhusverdächtigen wurden 5—10 ccm Blut aus den Ellenbogenvenen möglichst am Tage ihrer Ankunft in die Klinik, oder an dem nächsten Tage entnommen. Bei jedem Kranken nahmen wir das Blut mindestens 3mal, zuweilen 5—6mal, nach 4—7 Tagen. Jedesmal wurde das Blut auf die Agglutination und die Anwesenheit der spezifischen Ambozeptoren hin untersucht. Wenn sie in zu großer Quantität vorkamen, wurde das Blut wieder genommen und ihre bakterizide Eigenschaft parallel mit der Reaktion der Komplementbindung untersucht.

Da in der letzten Zeit in St. Petersburg Fälle von Paratyphus A und B ziemlich oft vorkamen, so bedienten wir uns bei unseren Versuchen auch der Paratyphuskulturen A und B. Die Kulturen waren vor kurzem den entsprechenden Kranken entnommen.

Die Diagnose begründeten wir auf das klinische Bild der Krankheit und auf die bakteriologischen Untersuchungen des Blutes und der Exkremente. In den zweifelhaften Fällen begründeten wir unsere Diagnose ausschließlich auf die Resultate der bakteriologischen Untersuchungen, indem wir Reinkulturen der betreffenden Bacillen zu bekommen versuchten.

Außer Typhuskranken untersuchten wir das Blut der an anderen Krankheiten Leidenden und ganz gesunder Personen.

Die Reaktion der Agglutination wurde ausschließlich mit dem Serum der Kranken angestellt.

Das Serum wurde mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und in verschiedenen Proportionen mit 24 Stunden alten Bouillonkulturen vermengt.

Die Untersuchung wurde nur mikroskopisch, in der Verdünnung 1:40 und weiter ausgeführt. Mit demselben Serum machten wir die Bordet-Gengousche Reaktion.

Es gibt zwei Methoden der Ausführung dieser Reaktion, die von Bordet-Gengou und die von Wassermann. Nach der ersten Methode werden als Antigen die eintägigen lebendigen Kulturen, nach der zweiten ihre Extrakte gebraucht. Auch die Quantität der Flüssigkeiten und die Zeit der Reaktion ist bei beiden Methoden verschieden. Da die Wassermannsche Methode genauer und mehr ausgearbeitet ist, so bedienten wir uns dieser letzteren in unseren Versuchen.

Für die Reaktion sind 5 Ingredientien nötig: 1) Antigen, 2) Serum, das auf die Anwesenheit des Ambozeptors (substance sensibilisatrice) zu versuchen ist, 3) Komplement, 4) hämolytisches Serum und 5) Erythrocyten.

Jedes von diesen Ingredientien wird mit physiologischer Kochsalzlösung zu 1 ccm verdünnt. Die ersten drei Elemente werden zusammengegossen und für 1 Stunde in den Thermostaten bei 37° gestellt. Dann werden die Elemente No. 4 und 5 hinzugefügt. Die ganze Mischung, die 5 ccm beträgt, wird wiederum auf 2 Stunden in den Thermostaten und dann ungefähr auf 10—12 Stunden in die Kälte gestellt. Die Reaktion vollzieht sich in folgender Weise: Das Komplement wird, dank der Anwesenheit des spezifischen Ambozeptors, mit dem Antigen verbunden. Wenn wir aber in dasselbe Probierglas noch durch einen hämolytischen Ambozeptor sensibilisierte Erythrocyten hinzufügen (inaktives hämolytisches Serum und Erythrocyten eines Hammels), so sehen wir, daß keine Auflösung der Erythrocyten erfolgt; sie setzen sich auf dem Boden des Probierglases ab. Zu ihrer Auflösung ist kein freies Komplement da; dieses ist durch den spezifischen Ambozeptor an das Antigen gebunden.

Wenn wir aber zu einem Serum, das keinen spezifischen Ambozeptor hat, ein Komplement zugießen, so bleibt dieses Komplement frei; fügen wir nunmehr inaktiviertes hämolytisches Serum und Erythrocyten hinzu, so wird das Komplement durch die hämolytischen Ambozeptoren fixiert, es tritt Hämolyse der Erythrocyten ein.

1) Das Antigen gewannen wir aus Typhus- und Paratyphuskulturen. Zu dem Zwecke nahm ich die 24 Stunden alten Agarkulturen und machte daraus eine Emulsion (5 ccm physiologische Kochsalzlösung auf ein Probierglas). Ich nahm davon verschiedene Quantitäten, die ich vorher genau austitrierte. Für eine einmalige Untersuchung konnte man sich solchen Antigens bedienen, aber da, wo man im Laufe der Krankheit mehrere Male das Blut auf die Anwesenheit der spezifischen Ambozeptoren untersuchen muß, ist es wichtig, das Antigen von einer bestimmten Beschaffenheit zu haben. Zu diesem Zwecke bereiteten wir ein Extrakt aus Bakterienkörpern vor: Eine eintägige Agarkultur wurde mit physiologischer Kochsalzlösung abgewaschen (5 ccm auf ein Probierglas), bei 60° während einer Stunde getötet und 7 Tage in den Thermostaten gestellt, wonach die Emulsion filtriert wurde. Das Filtrat wurde in verlöteten Ampullen aufbewahrt und verlor an seiner Kraft während der 2—3 für den Versuch nötigen Monate sehr wenig. Dann wurde das Antigen austitriert und die Quantität der Emulsion, welche das Komplement ohne die Ambozeptoren zu binden vermag, bestimmt; für die Reaktion nahmen wir eine Hälfte dieses Grenzwertes. Von der Emulsion aus lebendigen Bakterien müßten wir 0,1 ccm oder 0,2, von den Filtraten 0,05 ccm nehmen. Bei der Austitrierung des Antigens nahmen wir 0,1 ccm des Komplements, die entsprechende Quantität des hämolytischen Serums und 0,05 ccm Erythrocyten.

2) Das Serum wird vor dem Versuche eine halbe Stunde bei 56—58° inaktiviert.

Die vorhergehenden Versuche haben uns zu der Ueberzeugung geführt, daß für die Reaktion nicht mehr als 0,2 ccm nötig sind. Diese Quantität des Serums ist gewöhnlich genügend, um die Bindung des Antigens hervorzurufen. Für die genaue Bestimmung der Quantität der Ambozeptoren muß man das Serum austitrieren, um die minimale Quantität, in welcher es noch fähig ist, die Komplementfixation hervorzurufen, festzustellen. Auch muß man sich überzeugen, daß das Serum allein das Komplement zu binden nicht vermag.

3) Als Komplement benutzten wir ausschließlich 0,1 ccm Meerschweinchenblut.

4) Als hämolytisches Serum diente uns das Blut vom Schweine, das natürliche Hämolysine enthält (Maslakowetz und Liebermann), oder das Serum eines Kaninchens, welches spezifische Hämolysine für die Erythrocyten des Hammels enthalt. Zu diesem Zwecke immunisierten wir ein Kaninchen, indem wir ihm die ausgewaschenen Erythrocyten des Hammels in die Randvene des Ohres oder in die Bauchhöhle einführten, bis der Titer den Wert 1 : 1000 erreicht.

Zur Reaktion nimmt man Serum von einem Titer, der zweimal stärker als der Grenzwert ist. Die Arbeit mit dem Schweineblute ist bequem, weil es keine Vorbereitungen erfordert, sein Titer schwankt zwischen 0,05 und 0,4. Schade ist es, daß seine hämolytische Eigenschaft nicht sicher ist und oft ganz fehlt. Zuweilen ist es nötig, eine zu große Menge des Serums (wegen seines zu niedrigen Titers) zu gebrauchen, was nicht ohne schädlichen Einfluß auf das Resultat bleiben kann. Das hämolytische Serum wird inaktiviert, getrocknet und kann in der Dunkelheit und Kälte monatelang aufbewahrt werden.

5) Als Erythrocyten benutzten wir die des Hammels, die von dem Serum etwas ausgewaschen waren.

Für die Reaktion nahmen wir 1 ccm der Emulsion (0,05 ccm Erythrocyten), eine 5-proz. Emulsion in physiologischer Kochsalzlösung.

Vor jedem Versuche wurde das Serum und das Antigen genau austitriert. Der Versuch mit den Kontrollproben wurde nach folgendem Schlusse durchgeführt:

Als Beispiel will ich den Versuch mit dem Serum des Kranken No. 9 anführen:

Tabelle I.

No. der Probiergläser	Antigen	Ambozeptor	Komplement		Hämolytisches Serum	Hammel-Erythrocyten		Resultat der Hämolyse
1	0,1 Typh.	I.S. — 0,2	— 0,1	Eine Stunde im Thermostaten	— 0,005	— 0,05	Zwei Stunden im Thermostaten	0
2	0,1 Parat. A	0,2	— 0,1		0,005	0,05		völlig
3	0.1 Parat. B	— 0,2	— 0,1		0,005	0,05		„
4	ph. L.	ph. L.	— 0,1		0,005	0,05		„
5	ph. L.	ph. L.	— ph. L.		— 0,005	0,05		0
6	0,1 Typh.	N.S. — 0,2	— 0,1		— 0,005	0,05		völlig
7	0,1 Parat. A	— 0,2	— 0,1		0,005	0,05		„
8	0,1 Parat. B	— 0,2	— 0,1		0,005	0,05		„
9	0,1 Parat. A	ph. L.	— 0,1		0.005	0,05		„
10	0,1 Parat. A	ph. L.	— 0,1		0,005	0,05		„
11	0,1 Parat. B	ph. L.	— 0,1		— 0,005	0,05		„
12	ph. L.	— 0,2 I.S.	— 0,1		0,005	0,05		„
13	— 0,1 Parat. A	— 0,2 Typh.S.	— 0,1		0,005	0,05		0
14	— 0,1 Parat. A	— 0,2 Parat.AS.	— 0,1		0,005	0,05		0
15	— 0,1 Parat. B	— 0,2 Parat.BS.	— 0,1		0,005	0,05		0

In dieser Tabelle No. I wurde der Versuch in 15 Probiergläsern angestellt. In den ersten 3 wurde das Serum (I.S.) untersucht, in No. 4 und 5 das hämolytische Serum kontrolliert. No. 6—8 ist die Kontrolle der Antigene mit dem normalen Menschenserum (N.S.), No. 9—11 ist die Kontrolle der Antigene mit physiologischer Kochsalzlösung, No. 12 die Kontrolle des Serums, das zu untersuchen ist, No. 13—15 die Kontrolle der Antigene mit dem künstlichen Immunserum (Typhusserum, Paratyphus A-Serum, Paratyphus B-Serum).

Dieser Versuch hat gezeigt, daß das Serum No. 9 den spezifischen Ambozeptor gegen Bacillus typhi enthielt (Probierglas No. 1).

Um den genauen Titer des Serums No. 9 zu bestimmen, wurde der Versuch (Tabelle II) angestellt, welcher zeigte, daß die Reaktion der Komplementbindung bei 0,01 des Serums zustande kommt (Probierglas No. 5).

Tabelle II.

No. der Probiergläser	Antigen	Ambozeptor	Komplement		Hämolytisches Serum	Hammel-Erythrocyten		Resultat
1	0,1	0,2	0,1	Eine Stunde im Thermostaten	0,005	0,05	Zwei Stunden im Thermostaten	0
2	0,1	0,1	0,1		0,005	0,05		0
3	0,1	0,05	0,1		0,005	0,05		0
4	0,1	0,02	0,1		0,005	0,05		unbedeutende Hämolyse
5	0,1	0,01	0,1		0,005	0,05		
6	0,1	0,005	0,1		0,005	0,05		völlige Hämolyse
7	0,1	0,001	0,1		0,005	0,05		„ „
8	ph. L.	ph. L.	0,1		0,005	0,05		„ „
9	ph. L.	ph. L.	ph. L.		0,005	0,05		0

In den Fällen, wo es nicht nötig ist, den genauen Titer des Serums zu bestimmen, sondern nur die Anwesenheit der spezifischen Ambozeptoren zu diagnostizieren (zum Zwecke der Diagnose bei Ileotyphus), kann man das Schema sehr vereinfachen, wie es in der Tabelle No. IV dargestellt ist.

Hier (Probe des Serums No. 35) ist das Antigen bekannt; es ist aus dem Extrakte gewonnen; für die Kontrolle wurde das Serum eines Typhuskranken (Probe No. 2) und eines Gesunden genommen (Probe No. 5). Alle Sera sind für die Reaktion in einer Menge von 0,2 ccm genommen. Das Resultat ist eine recht intensiv positive Reaktion des Serums No. 35. Wenn kein fertiges oder genau austitriertes Antigen zu unserer Verfügung steht, können wir es aus einer eintägigen Kultur der Typhusbacillen gewinnen (nach Bordet) und den Versuch der Antigenbestimmung mit dessen Austitrierung vereinigen, wie es in der Tabelle No. III gezeigt wird.

Dasselbe Serum No. 35 wurde in verschiedenen Verdünnungen mit dem lebendigen Antigen untersucht, dabei hat es sich erwiesen, daß 0,2 ccm des Antigens (Probe No. 10) von sich selbst das Komplement bindet und man deshalb mit 0,1 ccm arbeiten muß. Aus derselben Tabelle ist ersichtlich, daß von dem lebendigen Antigen man viel mehr (0,1 ccm) als von dem Extrakte (0,05, Tabelle IV) nehmen muß. Bei der Austitrierung der Sera haben wir bemerkt, daß größere Mengen eine stärkere Komplementfixation gaben. Nur in zwei Fällen (No. 7 und 3) haben wir das Gegenteil bekommen. In No. 3 trat eine völlige Hemmung der Hämolyse bei $^1/_{500}$ ccm des Serums ein, bei $^1/_{100}$ war die Hämolyse stärker und bei $^1/_{10}$ trat fast völlige Hämolyse ein. In No. 7 bei $^1/_{1000}$ fand eine stärkere Hämolyse statt als bei $^1/_{100}$. Dabei ist aber zu bemerken, daß das Serum selbst nicht hämolysierte.

Ist es nicht dieselbe Erscheinung, die schon viele Autoren (Pfeiffer, Kolle, Neisser und Wechsberg) bei der Agglutination und Hämolyse bemerkt haben, d. h. daß bei stärkerer Verdünnung des Serums die Reaktion intensiver zutage tritt? Wahrscheinlich haben wir es hier mit der einzeitigen Anwesenheit von großen Mengen von Immun- und Antiimmunkörpern oder Antikomplementen zu tun. Wie schon früher erwähnt wurde, wurde in den Fällen, wo die Bordet-Gengousche Reaktion in einem kleinen Quantum des Serums positiv war, das letzte auf seine bakteriziden Eigenschaften nach Neisser-Wechsberg untersucht. Diese Methode besteht darin, daß man dem normalen, das Komplement enthaltenden Serum die Typhusbacillen und dann in verschiedenen

Mengen das zu untersuchende inaktivierte Serum zufügt. Die Ausführung der Untersuchung ist (nach Stern und Korte) folgende: Das zu untersuchende Serum wird inaktiviert und mit der Kochsalzlösung in einem Quantum von $^1/_{100}$ bis $^1/_{100000}$ bis 1,0 ccm verdünnt. Man nimmt eine eintägige Bouillonkultur und verdünnt sie 5000-fach mit physiologischer Kochsalzlösung, von der 0,5 dem Serum zugefügt wird. Dann setzt man dieser Mischung 0,5 ccm frisches Kaninchenblut in der Verdünnung 1:10 hinzu. So bekommen wir 2,0 ccm der Mischung. Zur Kontrolle nimmt man dieselbe Kultur und dasselbe Kaninchenkomplement; aber statt des zu prüfenden Serums setzt man ein normales und physiologische Kochsalzlösung hinzu. Nachdem die Mischungen 3 Stunden im Thermostaten gestanden haben, sät man sie auf Plattenkulturen und zählt dann die Kolonieen. Da wir Probiergläser mit verschiedenen Mengen des Serums haben, können wir den Titer der bakteriziden Eigenschaft genau bestimmen:

Tabelle III.

No. der Probiergläser	Lebendiges Antigen	Zu untersuchender Ambozeptor	Komplement		Hämolytisches Serum	Hammel-Erythrocyten		Resultate der Hämolyse
1	0,2	I.S. 0,2	0,1	Eine Stunde im Thermostaten	0,002	0,05	Zwei Stunden im Thermostaten	0 keine Hämolyse
2	0,15	0,2	0,1		0,002	0,05		0
3	0,1	0,2	0,1		0,002	0,05		0
4	0,05	0,2	0,1		0,002	0,05		unbedeutende Hämolyse
5	0,03	0,2	0,1		0,002	0,05		intensive Hämolyse
6	0,01	0,2	0,1		0,002	0,05		völlige Hämolyse
7	0,2	T.S. 0,2	0,1		0,002	0,05		0
8	0,1	0,2	0,1		0,002	0,05		0
9	0,05	0,2	0,1		0,002	0,05		unbedeutende Hämolyse
10	0,2	ph. L.	0,1		0,002	0,05		nicht volle Hämolyse
11	0,1	ph. L.	0,1		0,002	0,05		völlige Hämolyse
12	0,05	ph. L.	0,1		0,002	0,05		idem
13	ph. L.	ph. L.	0,1		0,002	0,05		„
14	ph. L.	ph. L.	ph. L.		0,002	0,05		0
15	ph. L.	0,2	0,1		0,002	0,05		völlige Hämolyse

Tabelle IV.

No. der Probiergläser	Extrakt	Zu untersuchendes Serum	Komplement		Hämolytisches Serum	Hammel-Erythrocyten		Resultate der Hämolyse
1	0,05	0,2 I.S.	0,1	Eine Stunde im Thermostaten	0,002	0,05	Zwei Stunden i. Thermostaten	0
2	0,05	0,2 T.S.	0,1		0,002	0,05		0
3	0,05	ph. L.	0,1		0,002	0,05		völlige Hämolyse
4	ph. L.	0,2 I.S.	0,1		0,002	0,05		idem
5	0,05	0,2 N.S.	0,1		0,002	0,05		„
6	ph. L.	ph. L.	0,1		0,002	0,05		„
7	ph. L.	ph. L.	ph. L.		0,002	0,05		0

Das Schema des Versuches ist aus der Tabelle V ersichtlich. Hier wird die Untersuchung des Serums No. 22, bei welchem am 24. Tage der Krankheit die Reaktion Bordets beim Titerwerte 1:400 positive Resultate gab, dargestellt:

Tabelle V.

No. der Probiergläser	Zu untersuchendes Serum	Typhuskultur	Kaninchenblut		Resultate auf 3 Petri-Schalen
1	$^1/_{100}$	0,5	$^1/_{10}$	3 Stunden im Thermostaten	5— 20— 18
2	$^1/_{200}$	0,5	$^1/_{10}$		12— 30— 19
3	$^1/_{400}$	0,5	$^1/_{10}$		24— 60— 79
4	$^1/_{800}$	0,5	$^1/_{10}$		125—245—190
5	$^1/_{1000}$	0,5	$^1/_{10}$		280—300—410
6	$^1/_{2000}$	0,5	$^1/_{10}$		205 000 ∞ ∞
7	$^1/_{5000}$	0,5	$^1/_{10}$		∞ ∞ ∞
8	$^1/_{10000}$	0,5	$^1/_{10}$		123 000 ∞ ∞
9	$^1/_{100}$ N.S.	0,5	$^1/_{10}$		185 000 ∞ ∞
10	ph. L.	0,5	$^1/_{10}$		∞ ∞ ∞
11	ph. L.	0,5	$^1/_{10}$		12 000—14 500

In diesem Versuche dienen die 8 ersten Probiergläser zur Austitrierung des Serums, das 9. zur Kontrolle des normalen Serums, das 10. und 11. der physiologischen Lösung (No. 11) sogleich, und nach 3 Stunden (No. 10). Man sieht, daß der bakterizide Titer $^1/_{1000}$ (Probierglas No. 5) ist. Solche Versuche wurden bei No. 8 mit folgenden Serumarten durchgeführt: No. 1 am 22. Tage der Krankheit, No. 3 am 17., No. 6 am 14., No. 7 am 24., No. 8 am 25., No. 14 am 34., No. 22 am 24. und No. 25 am 15. Tage.

Die Resultate sind aus der Tabelle VI ersichtlich:

Tabelle VI.

No. der Fälle	Tag der Krankheit	Komplementfixation	Agglutination	Bakterizide Fähigkeit	Resultat
1	22.	$^1/_{500}$	$^1/_{100}$	$^1/_{200}$	Schwache bakterizide Fähigkeit
3	17.	$^1/_{1000}$	$^1/_{40}$	0	Abwesenheit der bakteriziden Fähigkeit
6	14.	$^1/_{200}$	$^1/_{80}$	$^1/_{100}$	Schwache bakterizide Fähigkeit
7	24.	$^1/_{1000}$	$^1/_{50}$	$^1/_{800}$	Intensive bakterizide Fähigkeit
8	25.	$^1/_{10}$	$^1/_{40}$	$^1/_{200}$	Schwache bakterizide Fähigkeit
14	34.	0	$^1/_{100}$	$^1/_{300}$	
22	24.	$^1/_{400}$	$^1/_{100}$	$^1/_{2000}$	Intensive bakterizide Fähigkeit
25	15.	$^1/_{200}$	$^1/_{80}$	0	Keine bakterizide Fähigkeit

In der Tabelle VII sind die Resultate der primären Untersuchung (zu diagnostischem Zwecke) von 41 Kranken, welche in den Jahren 1907—1908 und 1908—1909 als Typhuskranke in die Klinik aufgenommen waren, dargestellt.

Außer den Typhuskranken wurden noch 20 Personen untersucht, 3 gesunde Diener des Hospitals und 17 an verschiedenen Krankheiten Leidende (3 an Influenza, 3 an Tuberculosis pulmonum, 1 an Neurasthenie, 2 an Bronchitis chronica, 2 an Cirrhosis hepatis hypertr., 3 an Pneumonia crouposa, 1 an Gastritis chronica).

Alle 61 untersuchten Personen können in zwei Kategorien eingeteilt werden: 20 Nichttyphöse und 41 Typhöse.

Die erste Kategorie der Sera wurde auf die Reaktion der Komplementfixation ausschließlich zu diagnostischem Zwecke untersucht, bei der Untersuchung der zweiten Kategorie verfolgten wir die oben erwähnten Zwecke.

Bei der ersten Kategorie war die Bordet-Gengousche Reaktion immer negativ, bei den Personen der zweiten Kategorie (Tabelle VII)

gaben von den 41 Untersuchten 38 ein positives Resultat. Bei der Analyse der Tabelle VII sehen wir, daß nur einmal, bei einem zweifellosen Typhusfalle (Serum No. 14) die Reaktion am 34. Tage der Krankheit ein negatives Resultat gab.

Tabelle VII.

No.	Primärdiagnose	Tag der ersten Untersuchung	Titerwert des Serums		Nachfolgende Diagnose
			Agglutination	Reaktion Bordets	
1	Ileotyphus	8.	1/60	1/100	Ileotyphus
2	„	18.	—[1]	1/20	„
3	„	9.	—	1/500	„
4	„	13.	1/40	1/200 Paratyphus B	Paratyphus B
5	„	28.	1/100	1/50	Ileotyphus
6	„	8.	—	1/100	„
7	„	29.	1/50	1/1000	„
8	„	18.	—	1/20	„
9	unbestimmt	4.	—	1/100	„
10	Ileotyphus	18.	1/60	1/50	„
11	unbestimmt	4.	—	1/200 Paratyphus B	Paratyphus B
12	Ileotyphus	32.	1/100	1/200	Ileotyphus
13	unbestimmt	5.	1/40	—	Influenza
14	Ileotyphus	34.	1/100	—	Ileotyphus
15	„	31.	1/100	—	„
16	„	38.	1/60	1/10	„
17	unbestimmt	6.	1/40	1/100	„
18	Ileotyphus	10.	—	1/200	„
19	„	12.	—	1/200 Paratyphus B	Paratyphus
20	unbestimmt	13.	1/160	—	Influenza
21	Ileotyphus	8.	—	1/40	Ileotyphus
22	„	16.	1/60	1/100	„
23	„	8.	—	1/200	„
24	„	23.	1/100	1/10 Paratyphus B 1/400 Typhus	„
25	„	6.	—	1/20	„
26	„	8.	1/40	1/50	„
27	„	14.	1/100	1/100	„
28	„	8.	1/60	1/20	„
29	„	15.	1/100	1/100	„
30	unbestimmt	13.	1/60	1/200	„
31	„	9.	1/40 Typhus	1/10 Typhus 1/200 Paratyphus B	Paratyphus B
32	Ileotyphus	10.	1/60	1/10	Ileotyphus
33	„	14.	1/100	1/20	„
34	„	9.	1/40	1/50	„
35	„	17.	1/50	1/100	„
36	unbestimmt	11.	1/60	1/200	„
37	Ileotyphus	8.	1/60	1/10	„
38	„	15.	1/100	1/10	„
39	unbestimmt	11.	1/80	1/50	„
40	Ileotyphus	7.	—	1/100	„
41	„	5.	—	1/20	„

In allen anderen Typhusfällen hat die Reaktion Bordets immer positives Resultat gegeben, nur zweimal war sie negativ, und diese Fälle erwiesen sich später als Influenza. Interessant in dieser Beziehung ist der Fall No. 20. Der Kranke wurde am 5. Tage der Krankheit in die Klinik aufgenommen; er hatte Fieber und heftige Kopfschmerzen. Die Krankheit entwickelte sich ganz allmählich. Weder Roseola noch vergrößerte Milz. Die Reaktion Widals gab positives Resultat (Verdünnung

---

1) — Abwesenheit der Reaktion.

des Serums 1:100), die Bordetsche negatives. Der Kranke verweilte 2 Wochen im Hospital, es erschien keine Roseola, er entfieberte am 14. Tage. Dreimal wurde sein Blut analysiert: Die Widalsche Reaktion gab jedesmal positive, die Bordetsche negative Resultate. Das ganze Bild der Krankheit sprach gegen Typhus, außer der Widalschen Reaktion. Doch ergab sich bei sorgfältigem Ausfragen, daß der Kranke 3 Jahre vorher an Typhus gelitten hatte, was die positive Reaktion Widals erklären konnte. Dieser Fall, wie auch unsere anderen Beobachtungen zeigen, daß die Agglutination als diagnostische Methode nur eine relative Bedeutung hat. Sie gelingt zuweilen bei bekannt typhösen Fällen nicht und gibt bei nicht typhösen Fällen positive Resultate. Aus der oben angeführten Tabelle sieht man, daß die Agglutination in 12 Fällen nicht gelang; diese Fälle gehören dem Beginne der Krankheit an (der 4., 5., 6., 7., 8. und 10. Tag). Die Bordet-Gengousche Reaktion gab in allen diesen Fällen positives Resultat, und die Diagnose wurde bakteriologisch bestätigt (die Typhusbacillen werden in Reinkultur bekommen). Besonders interessant sind die Paratyphusfälle, die dank der Bordetschen Reaktion erkannt und bakteriologisch bestätigt wurden.

Es sind folgende Fälle:

No. 11. Der Kranke D. wurde am 7. April 1908, am 4. Tage der Krankheit, in die Klinik aufgenommen. Er hatte Kopfschmerzen, belegte Zunge, Temp. 37,5°. Das Blut wurde am 4. Tage der Krankheit entnommen. Die Agglutination gab negatives, die Bordetsche Reaktion positives Resultat mit dem Antigen Paratyphus B ($^1/_{100}$). Die Agglutination erschien erst am 17. Tage der Krankheit. Aus Faeces wurde Bacillus paratyphus B erhalten.

No. 19. Der Kranke T. ist am 7. Mai, am 10. Tage der Krankheit, gekommen; vergrößerte Milz, Roseola, Temp. 39,0°. Am 12. Tage wurde das Blut analysiert. Die Agglutination gab negatives, die Bordetsche Reaktion positives Resultat beim Titerwerte des Serums 1:100 und dem Antigen Paratyphus B. Am 16. Tage wurde das Blut zum zweiten Male untersucht: Agglutination negativ, Bordetsche Reaktion 1:200 positiv. Am 20. Tage Agglutination $^1/_{30}$ positiv, Bordetsche Reaktion 1:100. Am 25. Tage Agglutination $^1/_{40}$ mit Bac. paratyph. B, Bordetsche Reaktion $^1/_{50}$ positiv. Am 20. Tage der Krankheit wurde aus den Faeces Bacillus paratyphi B kultiviert.

No. 31. Der Kranke R., ein Student, trat in das Hospital am 25. März 1909, am 7. Tage der Krankheit, mit unbestimmten Typhussymptomen ein. Das Blut wurde am 9. Tage untersucht: die Agglutination positiv, $^1/_{40}$ mit Bac. typhi und $^1/_{50}$ mit Bac. parat. B, die Bordetsche Reaktion mit dem Antigen Typhus 1:10 und Paratyphus B 1:200. Am 15. Tage wurde aus den Faeces Bacillus paratyphi B kultiviert.

Die Verteilung des Materials, der Tag der Krankheit und die Resultate des Versuchs sind aus Tabelle VIII ersichtlich.

Tabelle VIII.

Tag der Krankheit, an welchem das Blut untersucht wurde	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	23	24	28	31	32	34	38	Im ganzen
Untersuchte Kranke	2	1	2	1	7	3	2	2	1	2	2	2	1	1	3	1	1	1	1	1	1	1	39
Positive Resultate der Bordetschen Reaktion	2	1	2	1	7	3	2	2	1	2	2	2	1	1	3	1	1	1	1	1	0	1	38
Positive Resultate der Agglutination	0	0	1 (1?)	0	4 (1?)	3 (2?)	1	2	0	2 (1?)	2	2	1	1 (1?)	1	1	1 (1?)	1	1	1	1	1	27 (7?)

Während die Reaktion Bordets in 38 (von 39) Fällen positive Resultate gab, ist die Agglutination nur 20mal echt deutlich gelungen (7mal war die Verdünnung des Serums niedriger als 1:50, solche Fälle sind in der Tabelle mit ? bezeichnet).

Also sehen wir, daß für die Frühdiagnose des Typhus die Bordetsche Reaktion viel bessere Resultate als die Agglutination gibt. Und was besonders wichtig ist, sie ist sehr spezifisch, wenn wir die Vorsicht, die bei der Arbeit nötig ist, und den quantitativen Unterschied bei der Untersuchung der verwandten Bakterienarten in Betracht ziehen (No. 31 Tabelle VII). Wenn wir die Fähigkeit des Organismus, die Agglutinine mit der die Immunkörper der Bordetschen Reaktion erzeugen, vergleichen, so beobachten wir folgendes: Die Agglutinine häufen sich im Blute allmählich an und erscheinen gewöhnlich erst am Ende der ersten Woche (oft sogar der zweiten), sie vermehren sich langsam und verbleiben im Organismus während der ganzen Krankheit, und sehr lange Zeit (zuweilen jahrelang) nach der Heilung. Die spezifischen Immunkörper erscheinen im Blute viel früher, häufen sich rasch an und verschwinden viel schneller; selten bleiben sie nach der Rekonvaleszenz, zuweilen verschwinden sie schon am Ende der Krankheit (wenn die Temperatur normal wird, No. 14). Als Beispiele können folgende von meinen Beobachtungen dienen:

Der Kürze wegen bezeichnen wir mit dem Buchstaben V die Widalsche Reaktion, mit B die von Bordet. Wenn keine spezielle Bezeichnung da ist, so ist die Reaktion mit dem Bac. typhi positiv. Niedriger als $^1/_{60}$ ist die Agglutination als keine spezifische betrachtet.

No. 1. Der Kranke F., 23 Jahre alt, Ileotyphus; 8. Tag der Krankheit, die V-Reaktion mit dem Bac. typhi + $^1/_{60}$, mit dem Paratyphus A und B —. Die Reaktion Bordets + $^1/_{100}$; 15. Tag: V + $^1/_{80}$, B + $^1/_{200}$; der 22. Tag: V + $^1/_{100}$, B + $^1/_{500}$; der 30. Tag: V + $^1/_{160}$, B + $^1/_{200}$ (der 3. Tag der normalen Temp.), der 37. Tag: V + $^1/_{180}$, B + $^1/_{50}$.

No. 2. Der Kranke B., 23 Jahre alt, Soldat: Schwerer Ileotyphus, 18. Tag der Krankheit, V negativ mit allen Typhusarten, B + $^1/_{20}$; der 25. Tag der Krankheit: V + $^1/_{40}$, B + $^1/_{100}$; der 35. Tag: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{200}$; der 50. Tag (der 4. Tag der normalen Temp.): V + $^1/_{90}$, B + $^1/_{40}$.

No. 3. Der Kranke J., 23 Jahre alt, Ileotyphus von mittlerer Schwere. Der 9. Tag der Krankheit: V —, B + $^1/_{500}$; der 17. Tag: V + $^1/_{40}$, B + $^1/_{1000}$; der 25. Tag: V + $^1/_{100}$, B + $^1/_{500}$; der 35. Tag (5. Tag der normalen Temp.): V + $^1/_{100}$, B + $^1/_{100}$.

No. 4. A., 23 Jahre alt, Student, leichter Fall von Ileotyphus. Der 13. Tag d. K.: V + $^1/_{40}$, B + $^1/_{200}$ Parat. B, B — mit dem Typhusbacillus; der 20. Tag: V + $^1/_{60}$ und + $^1/_{100}$ Parat. B, B + $^1/_{500}$ Parat. B; der 30. Tag (6. Tag der normalen Temp.): V + $^1/_{40}$ Typh., $^1/_{100}$ Parat. B, B + $^1/_{100}$.

No. 5. S., 29 Jahre alt, Ileotyphus von mittlerer Schwere. Der 28. Tag d. K.: V + $^1/_{100}$, B + $^1/_{50}$; der 35. Tag d. K.: V + $^1/_{100}$, B + $^1/_{10}$ (der 3. Tag der normalen Temp.); der 45. Tag: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{5}$ (der 13. Tag der normalen Temp.).

No. 6. E., 40 Jahre alt, Ileotyphus, ein leichter Fall. Der 8. Tag d. K.: V —, B + $^1/_{100}$; der 14. Tag d. K.: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{200}$; der 22. Tag: V + $^1/_{100}$, B + $^1/_{50}$ (der 3. Tag der normalen Temp.); der 31. Tag: V + $^1/_{80}$, B —.

No. 7. K., 11 Jahre alt, schwerer Typhus. Der 24. Tag d. K.: V + $^1/_{50}$, B + $^1/_{1000}$; der 39. Tag: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{500}$; der 58. Tag: V + $^1/_{50}$, B + $^1/_{100}$ (der 8. Tag der normalen Temp.).

No. 8. S., 22 Jahre alt, leichter Typhus. Der 18. Tag: V —, B + $^1/_{20}$; der 25. Tag: V + $^1/_{40}$, B + $^1/_{10}$ (der 4. Tag der normalen Temp.); der 44. Tag: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{5}$; der 51. Tag: V + $^1/_{40}$, B —.

No. 9. R., 24 Jahre alt, Ileotyphus von mittlerer Schwere. Der 4. Tag: V —, B + $^1/_{100}$; der 9. Tag: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{200}$; der 29. Tag (4. Tag der normalen Temp.): V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{20}$; der 40. Tag: V + $^1/_{100}$, B —.

No. 10. D., 28 Jahre alt, schwerer Typhus. Der 18. Tag: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{50}$; der 28. Tag: V + $^1/_{100}$, B + $^1/_{20}$; der 38. Tag: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{10}$; der 47. Tag (3. Tag der normalen Temp.): V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{5}$.

No. 11. B., 26 Jahre alt, ein leichter Typhus. Der 4. Tag d. K.: V —, B + $^1/_{10}$ Parat. B; der 14. Tag: V + $^1/_{60}$, B + $^1/_{500}$ Parat. B und + $^1/_{10}$ Typhus; der 25. Tag (4. Tag der normalen Temp.): V + $^1/_{40}$ Parat. B $^1/_{80}$ Typhus, B + $^1/_{100}$ Parat. B; der 35. Tag: V + $^1/_{80}$ Parat. B, $^1/_{60}$ Typhus, B + $^1/_{20}$ Parat. B. Aus den Faeces wurde Bacillus paratyphi B auskultiviert.

No. 14. J., 42 Jahre alt, Typhus von mittlerer Schwere. Der 34. Tag d. K. (10. Tag der norm. Temp.): V + $^1/_{100}$, B —.

No. 18. M., 37 Jahre alt, Typhus von mittlerer Schwere. Der 10. Tag d. K.: V —, B + $^{1}/_{200}$; der 16. Tag d. K.: V + $^{1}/_{50}$, B + $^{1}/_{400}$; der 25. Tag d. K.: V + $^{1}/_{100}$, B + $^{1}/_{100}$; der 32. Tag d. K.: V + $^{1}/_{100}$, B + $^{1}/_{20}$.

No. 22. P., 22 Jahre alt, Typhus von mittlerer Schwere. Der 16. Tag d. K.: V + $^{1}/_{60}$, B + $^{1}/_{100}$; der 25. Tag d. K.: V + $^{1}/_{100}$, B + $^{1}/_{400}$; der 32. Tag d. K. (5. Tag der normalen Temp.): V + $^{1}/_{10}$, B + $^{1}/_{10}$.

No. 25. T., 22 Jahre alt, Typhus von mittlerer Schwere. Der 6. Tag d. K.: V —, B + $^{1}/_{20}$; der 7. Tag d. K.: V —, der 8. Tag d. K.: V —, der 9. Tag d. K.: V + $^{1}/_{50}$, B + $^{1}/_{100}$; der 15. Tag d. K.: V + $^{1}/_{60}$, B + $^{1}/_{200}$; der 25. Tag d. K.: V + $^{1}/_{200}$, B + $^{1}/_{300}$; der 35. Tag d. K.: V + $^{1}/_{100}$, B + $^{1}/_{200}$; der 54. Tag d. K. (15. Tag der normalen Temp.) V + $^{1}/_{60}$, B + $^{1}/_{40}$.

No. 39. S., 37 Jahre alt, Typhus von mittlerer Schwere. Der 11. Tag d. K.: V + $^{1}/_{80}$, B + $^{1}/_{50}$; der 18. Tag d. K.: V + $^{1}/_{100}$, B + $^{1}/_{200}$; der 30. Tag d. K.: V + $^{1}/_{100}$, B + $^{1}/_{10}$; der 40. Tag d. K.: V + $^{1}/_{120}$, B + $^{1}/_{40}$.

Aus den Kurven der Agglutinine und Immunkörper sieht man, wie verschieden die Beziehungen zwischen den Agglutininen und den Immunkörpern sind. In einer Reihe der Fälle (Fall No. 1) sind die Kurven fast parallel) erscheinen die Agglutinine und die Immunkörper gleichzeitig und häufen sich im Blute langsam an. In anderen Fällen (was viel öfter zu beobachten ist) erscheinen die Immunkörper viel früher (Fall No. 3 und 25, konvergierende Kurven) und häufen sich schneller an. Wir sehen auch, daß die Immunkörper viel schneller als die Agglutinine verschwinden (Fall No. 6 und 9), die Kurven kreuzen sich (Fall No. 6 und 18).

Wenn wir die Tabelle VI analysieren, so sehen wir, daß der Titerwert der bakteriziden Fähigkeit immer viel höher als der der agglutinierenden ist, also kann man sich die bakterizide Fähigkeit in unseren Untersuchungen durch die Anwesenheit der Agglutinine erklären, die maximale Anhäufung der Immunkörper im Blute fällt nicht mit der maximalen Bakterizidität zusammen. In einigen Fällen, wie No. 3 und 25 (Tabelle VI), ist es ungeachtet des hohen Titerwertes des Serums bei der Reaktion der Komplementfixation uns gar nicht gelungen, die bakterizide Fähigkeit des Blutes zu konstatieren.

In den Fällen No. 1, 6, 8 und 14 war der bakterizide Titerwert relativ niedrig, nur in einem Falle (No. 22) war er hoch genug, der intensiven Komplementfixation entsprechend. Zu beachten ist No. 14 aus derselben Tabelle: hier war die Bordetsche Reaktion negativ und die bakterizide Fähigkeit = $^{1}/_{300}$. Dieser Fall ist, wie schon früher erwähnt, die einzige Ausnahme aus den 39 Fällen; wahrscheinlich kann man das dadurch erklären, daß es der 34. Tag der Krankheit und der 10. der normalen Temperatur war. Wir haben schon gesehen, daß zu Ende der Krankheit die Fähigkeit der Komplementfixation schwächer wird, ja selbst verschwindet (Protokoll-No. 6, 8 und 9). Ganz andere Erscheinungen beobachten wir bei der Untersuchung der Agglutination: im Stadium der Rekonvaleszenz kommt sie öfter an den Tag als am Anfang oder auf dem höchsten Punkte der Krankheit. Also ist es uns nicht gelungen, zwischen den bakteriziden Eigenschaften des Blutes der Typhuskranken und der Reaktion der Komplementfixation einen Zusammenhang oder eine Beziehung zu konstatieren. Ebenso steht es mit der bakteriziden Fähigkeit. Und das ist in der Beziehung wichtig, als es die Meinung einiger Autoren, daß das Komplement sich mit dem bakteriziden Amboceptor verkettet, widerlegt. Man muß eher annehmen, daß das Komplement mit einem anderen Immunkörper, dessen Beschaffenheit näher noch nicht bekannt ist, sich verbindet. Dieser Immunkörper existiert in dem infizierten Organismus und kann durch die Reaktion von Bordet-Gengou leicht an den Tag gebracht werden.

Auf Grund unserer Beobachtungen können wir folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) Die Bordet-Gengousche Reaktion kann mit großem Erfolg zur Diagnose von Ileotyphus gebraucht werden; sie ist sehr spezifisch und gibt frühere und genauere Resultate als die Agglutination.

2) Die Immunkörper erscheinen im Blute früher als die Agglutinine, vermehren sich schneller und verschwinden schneller als diese letzteren.

3) Die Immunkörper, die nach der Methode der Komplementbindung entdeckt werden, sind mit den Bakteriolysinen nicht identisch. Es sind spezifische selbständige Substanzen, die das Komplement zu binden fähig sind.

4) Analog mit der Agglutination und der Bakteriolyse tritt die Reaktion der Komplementbindung mit dem verdünnten Serum in manchen Fällen viel klarer und intensiver, als mit dem konzentrierteren auf.

5) Für die genaue Diagnose ist es wichtig, das zu untersuchende Serum auszutitrieren und als Antigen außer dem Bacillus typhi auch den Bacillus paratyphi zu gebrauchen.

6) Die Methode Wassermanns ist der von Bordet-Gengou vorzuziehen, da ihre Ausführung viel genauer ist.

7) Jede Untersuchung soll mit Kontrollversuchen von Ambozeptor, Antigen und Komplement zusammen angestellt werden; nur auf diese Weise können wir genaue Resultate bekommen.

8) Die Ausführung der Reaktion erfordert eine Laboratoriumseinrichtung und einige Erfahrungen beim Beobachten.

Literatur.

Bordet, J., Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 12. 1898.
Bordet, J., et Gengou, Annal. de l'Inst. Pasteur. T. 15. 1901.
Wassermann, Neisser u. Bruck, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 19.
Widal et Le Sourd, Societé méd. d. hôp. 1901.
Georgievsky, Botkins Krankenhaus-Zeitung. 1902. [Russisch.]
Wassermann u. Bruck, Med. Klinik. 1905.
Moreschi, Berliner klin. Wochenschr. 1906 u. 1907.
Leuchs, Berliner klin. Wochenschr. 1907.
Posner, Münch. med. Wochenschr. 1907.
Simnitzky u. Gladin, Russky Wratsch. 1907. No. 7. [Russisch.]
Neufeld u. Hüne, Arbeit. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. 25.
Leuchs u. Schöne, Zeitschr. f. Hyg. 1908.
Kentzler u. Királyfi, Zeitschr. f. klin. Med. 1908.
Raskine, M., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. 1. Orig. Bd. 48. Heft 4.
Händel, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 49.
Krumbein u. Schatiloff, zitiert bei T. Gryglewitch, Dissert. Petersburg 1909.
Neisser u. Wechsberg, Münch. med. Wochenschr. 1901.
Stern u. Korte, Berliner klin. Wochenschr. 1904.
Maslakowetz u. Liebermann, Russky Wratsch. 1908. No. 15.
Hirschfeld, Zeitschr. f. klin. Med. 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber die komplementbindenden Stoffe luetischer Sera[1]).

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.]

Von Dr. **H. Toyosumi** (Tokio, Japan).

Die Anschauung, daß es sich bei der Wassermannschen Reaktion um eine kolloidale Fällung zwischen Zell- und Serumbestandteilen handelt, ist jetzt fast allgemein anerkannt. Diese Vorstellung wurde von allen jenen Autoren geäußert, welche die Tatsache feststellen konnten, daß der Komplementbindungsreaktion bei Lues eine Spezifität im Sinne der Immunitätslehre fehle. Nun wissen wir aber, daß sämtliche Antigen-Antikörperreaktionen Kolloidreaktionen darstellen, und es fragt sich, ob auch bei dieser Reaktion ein Antigen und ein entsprechender Antikörper sich nachweisen lassen. Weil und Braun nahmen Bestandteile von Organzellen als Antigene an, welche im infizierten Organismus durch den Abbau der Zellen zur Resorption gelangen und die Antikörperbildung veranlassen. Wir wollen auf die theoretische Begründung der Anschauung dieser Autoren hier verzichten und auf deren Publikation (Wiener klin. Wochenschr. 1909. No. 17) verweisen.

Wir stellten es uns zur Aufgabe, zu untersuchen, ob sich im Gewebe Stoffe nachweisen lassen, welche ebenso wie Antigene die Stoffe der luetischen Sera zu verankern imstande sind. Es ist selbstverständlich, daß wir nicht mit Extrakten arbeiten konnten, sondern daß wir über ein Material verfügen mußten, welches sich nach der Behandlung entfernen ließ. Wir wählten dieselbe Versuchsanordnung, welche man einschlagen kann, um bei der spezifischen Komplementbindung die Antikörpernatur der komplementbindenden Stoffe zu erweisen. So wirken gelöste Bakterienbestandteile mit dem spezifischen Immunserum zusammen komplementabsorbierend, und es gelingt durch Behandlung der Immunsera mit Vollbakterien die komplementbindenden Stoffe zu verankern und so den Immunseris die Fähigkeit zu nehmen, mit Bakterienextrakten Komplement zu binden. Denselben Weg schlugen wir bei den vorliegenden Untersuchungen ein. Auch hier wählten wir zur Behandlung der luetischen Sera analog den Vollbakterien Zellemulsionen und prüften die behandelten Sera dann gegenüber den Zellextrakten auf ihre komplementbindende Fähigkeit.

Die Versuchstechnik, die wir dabei einschlugen, gestaltete sich folgendermaßen. Die frisch gewonnenen Organe des normalen Meerschweinchens wurden im sterilen Mörser verrieben, dreimal mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gewaschen; die überstehende Flüssigkeit wurde abgegossen und die noch den Organen anhaftende Flüssigkeit mit Filtrierpapier entfernt. Hierauf wurde das luetische Serum, welches $1/2$ Stunde auf 56° C inaktiviert war, in dem Verhältnis etwa von 1 g Organemulsion pro 1 ccm Serum beschickt. Nach 1-stündigem Aufenthalt bei 37° C wurde die Serumorganemulsion auf der elektrischen Zentrifuge klar abzentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde zum zweiten Male auf dieselbe Weise mit frischer Organemulsion behandelt. Erst das zweimal mit Organen behandelte und klar zentrifugierte Serum

---

1) Das Resultat dieser Arbeit ist kurz zusammenfassend in Wiener klin. Wochenschrift. 1909. No. 21 mitgeteilt.

wurde untersucht. Zur Behandlung mit Bakterien verwandten wir frische Agarkultur. Ungefähr 0,8 ccm inaktiviertes Serum wurde zweimal mit je einer frischen Agarkultur behandelt. In dem Falle, wo abgetötete Bakterien zur Behandlung verwendet waren, wurde zuerst eine Agarkultur in ca. 5 ccm steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt, abzentrifugiert und der Bodensatz 1 Stunde bei 63—65° C erhitzt und zur Behandlung benutzt. Als Antigen wählten wir alkoholischen Meerschweinchenherzextrakt (mit 10 ccm 96-proz. Alkohol 4 Stunden auf 60—65° C extrahiert), in der Dosis von 0,1 ccm, als Komplement 0,1 ccm frisches Meerschweinchenserum. Als hämolytisches System wurde eine 5-proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen mit der dreifach lösenden Dosis des hämolytischen Ambozeptors sensibilisiert und davon 1 ccm zur Untersuchung verwandt. Bei jedem Versuche haben wir die unbehandelten Sera, welche bei 56° C inaktiviert waren, bis auf die Behandlung den gleichen Prozeduren wie die behandelten Sera ausgesetzt und als Kontrolle benutzt. Selbstverständlich wurden jedesmal 0,1 ccm Komplement allein und dasselbe einerseits mit 0,1 ccm Meerschweinchenherzextrakt, andererseits mit luetischem Serum untersucht.

Wir haben zunächst eine Anzahl luetischer Sera mit Meerschweinchenleberemulsionen behandelt, da wir wissen, daß die Meerschweinchenleber konstant einen wirksamen Extrakt liefert. Um einer bei der Behandlung der Sera entstandenen Verdünnung Rechnung zu tragen, wurden die behandelten Sera stets in einer größeren Menge angewendet, so statt 0,2 0,22, statt 0,1 0,12 und statt 0,05 0,07. Dies ist in den Versuchstabellen nicht hervorgehoben.

Versuch I.

Menge des Serums	Ser. luet. No. I unbehandelt	Ser. luet. No. I behandelt	Ser. luet. No. II unbehandelt	Ser. luet. No. II behandelt	Ser. luet. No. III unbehandelt	Ser. luet. No. III behandelt
0,2	θ	k. L.	θ	st. L.	θ	k. L.
0,1	θ	k. L.	θ	f. k. L.	f. k. L.	k. L.
0,05	θ	k. L.	θ	k. L.	k. L.	k. L.

Menge des Serums	Ser. luet. No. IV unbehandelt	Ser. luet. No. IV behandelt	Ser. luet. No. V unbehandelt	Ser. luet. No. V behandelt
0,2	θ	k. L.	θ	θ
0,1	θ	k. L.	θ	θ

Menge des Serums	Ser. luet. No. VI unbehandelt	Ser. luet. No. VI behandelt
0,15	θ	k. L.
0,1	θ	k. L.
0,05	θ	k. L.

In der Tabelle bedeutet θ eine komplette Hemmung, st. L. eine starke Lösung, f. k. L. eine fast komplette Lösung, k. L. eine komplette Lösung.

In diesem Versuche ist es uns mit einer Ausnahme gelungen, die Sera völlig zu erschöpfen oder stark abzuschwächen. Wir werden noch darauf zurückkommen, worauf das Versagen bei dem Serum V beruht.

In den folgenden Versuchen wollten wir prüfen, ob auch Bakterien die Fähigkeit besitzen, den luetischen Seris ihre komplementbindende Kraft zu nehmen.

Versuch II.

Menge des Serums	Ser. luet. No. I unbehandelt	Ser. luet. No. I mit leb. Cholera-vibr. behandelt	Ser. luet. No. VII unbehandelt	Ser. luet. No. VII mit leb. Typhus-bac. behandelt	Ser. luet. No. VII mit Meerschw.-Leber behandelt
0,2	θ	θ	θ	θ	st. L.
0,1	θ	θ	θ	θ	k. L.
0,05	θ	θ	θ	θ	k. L.

Es zeigt sich, daß Bakterien hierzu in keiner Weise befähigt sind, während bei der gleichzeitigen Behandlung des Serums mit Meerschweinchenleber die komplementbindende Fähigkeit verloren geht.

In dem folgenden Versuche haben wir ein luetisches Serum mit verschiedenen Organen behandelt, um etwaige Differenzen in den verschiedenen Organzellen festzustellen. Gleichzeitig wurde ein spezifisches Typhusimmunserum sowohl mit Zellen als auch mit Bacillen behandelt.

Versuch III.

Menge des Serums	Ser. luet. No. VII unbehandelt	Ser. luet. No. VII mit Meerschw.-Leber behandelt	Ser. luet. No. VII mit Meerschw.-Herz behandelt	Ser. luet. No. VII mit Meerschw.-Niere behandelt	Ser. luet. No. VII mit Meerschw.-Gehirn behandelt	Ser. luet. No. VII mit Meerschw.-Blutkörperch. behandelt 1)	Ser. luet. mit leb. Typhusbacillen behandelt
0,2	θ	k. L.	k. L.	k. L.	θ	θ	θ
0,1	θ	k. L.	k. L.	k. L.	θ	θ	θ
0,05	θ	k. L.	k. L.	k. L.	θ	θ	θ

Menge des Serums	Typhusimmunserum 2) unbehandelt	Typhusimmunserum mit Meerschw.-Leber behandelt	Typhusimmunserum mit leb. Typhusbacillen behandelt
0,2	θ	θ	k. L.
0,1	θ	θ	k. L.
0,05	f. k. L.	k. L.	k. L.

Dieser Versuch zeigt zunächst in Uebereinstimmung mit den früheren, daß Leber, Herz und Niere im Gegensatz zu Bakterien stark wirksam sind. Weder Gehirnzellen noch rote Blutkörperchen besitzen die Fähigkeit, die komplementbindende Kraft der luetischen Sera abzuschwächen. Im Gegensatz zum luetischen Serum wird aber ein spezifisches Typhusimmunserum durch Leberzellen gar nicht in seiner komplementbindenden Fähigkeit beeinträchtigt. Die Behandlung mit Typhusbacillen macht es selbstverständlich wirkungslos.

---

1) 1 ccm Serum wurde zweimal mit je 1,5 ccm gewaschenen roten Blutkörperchen behandelt.

2) Typhusimmunserum stammt von einem mit abgetöteten Bacillen intravenös behandelten Kaninchen. Bakterienextrakt wurde auf gewöhnliche Weise hergestellt (1 Kollesche Schale in 20 ccm).

Versuch IV.

Menge des Serums	Ser. luet. No. VIII unbehandelt	Ser. luet. No. VIII mit Meerschw.-Milz behandelt	Ser. luet. No. VIII mit Meerschw.-Herz behandelt	Ser. luet. No. VIII m. abgetöt. Typhusbacillen behandelt
0,2	θ	θ	st. L.	θ
0,1	θ	θ	k. L.	θ
0,05	θ	θ	k. L.	θ

Menge des Serums	Cholera-Imm.-Ser. No. I unbehandelt	Cholera-Imm.-Ser. No. I mit Meerschw.-Leber behandelt	Cholera-Imm.-Ser. No. I mit Meerschw.-Niere behandelt	Cholera-Imm.-Ser. No. I mit abgetöt. Choleravibrionen behandelt
0,2	θ	θ	θ	k. L.
0,1	θ	θ	θ	k. L.
0,05	θ	θ	θ	k. L.

Choleraimmunserum stammt von einem Kaninchen, welches mit den abgetöteten Choleravibrionen intravenös behandelt war. Der Choleraextrakt wurde auf gewöhnliche Weise hergestellt und 0,15 ccm zur Untersuchung angewandt.

Menge des Liq. cerebrosp.	Liq. cerebrosp. d. Paralytikers No. I unbehandelt	Liq. cerebrosp. d. Paralytikers No. I mit Meerschw. Niere behandelt	Liq. cerebrosp. d. Paralytikers No. I mit Meerschw.-Leber behandelt	Liq. cerebrosp. d. Paralytikers No. I mit abgetöt. Choleravibrionen behandelt	Liq. cerebrosp. d. Paralytikers No. II unbehandelt	Liq. cerebrosp. d. Paralytikers No. II mit Meerschw.-Niere behandelt	Liq. cerebrosp. d. Paralytikers No. II mit Meerschw.-Leber behandelt	Liq. cerebrosp. d. Paralytikers No. II mit abgetöt. Typhusbacillen behandelt
0,2	θ	k. L.	k. L.	θ	θ	k. L.	k. L.	θ
0,1	θ	k. L.	k. L.	θ	θ	k. L.	k. L.	θ
0,05	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.	k. L.

Hier wurde zunächst der eben geschilderte Versuch mit einem Choleraimmunserum angestellt, und zwar mit demselben Resultate. Gleichzeitig gelangten hier Cerebrospinalflüssigkeiten von Paralytikern zur Untersuchung. Auch diese werden ebenso wie die luetischen Sera durch Einwirkung von Organzellen, nicht aber von Bakterien wirkungslos.

Versuch V.

Menge des Serums	Ser. luet. No. IX unbehandelt	Ser. luet. No. IX mit Meerschw.-Leber behandelt	Ser. luet. No. X unbehandelt	Ser. luet. No. X mit Meerschw.-Niere behandelt	Ser. luet. No. XI unbehandelt	Ser. luet. No. XI mit Meerschw.-Leber behandelt
0,2	θ b. L.	k. L.	b. L.	k. L.	θ	k. L.
0,1	θ	k. L.	θ	k. L.	θ	k. L.
0,05	θ	k. L.	θ	k. L.	θ	k. L.

In der Tabelle bedeutet b. L. eine beginnende Lösung nach 2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank.

Menge des Serums	Ser. luet. No. XII unbehandelt	Ser. luet. No. XII mit Meerschw.-Herz behandelt	Ser. luet. No. XII mit Meerschw.-Gehirn behandelt	Ser. luet. No. XII mit Meerschw.-Leukocyten behandelt	Ser. luet. No. XII mit Meerschw.-rot. Blutkörp. behandelt
0,2	θ	st. L.	θ	θ	θ
0,1	θ	k. L.	θ	θ	θ
0,05	θ	k. L.	k. L.	θ	k. L.

Leukocyten wurden durch intraperitoneale Bouilloninjektion gewonnen, dreimal gewaschen und in 2 Teile geteilt. 0,8 ccm Serum wurde damit zweimal behandelt.

In diesem Versuche ist zunächst auffällig, daß zwei Sera in der größten Menge am schwächsten hemmend wirken. Es handelt sich hier um Antikörperüberschuß, welcher, wie wir wissen, die Reaktion stört. Gleichzeitig entnehmen wir diesem Versuche, daß die Sera in ihrer Reaktion nicht beeinflußt werden, wenn sie der Einwirkung von Leukocyten ausgesetzt waren.

Versuch VI.

Menge des Serums	Ser. d. Paralytikers unbehandelt	Ser. d. Paralytikers mit Meerschw.-Herz behandelt	Ser. luet. No. XIII unbehandelt	Ser. luet. No. XIII mit Menschenniere behandelt
0,2	θ	k. L.	θ	k. L.
0,1	θ	k. L.	θ	k. L.
0,05	k. L.	k. L.	θ	k. L.

Menge des Liq. cerebr. sp.	Liq. cerebrosp. des Paralytikers No. III unbehandelt	Liq. cerebrosp. des Paralytikers No. III mit Meerschw.-Leber behandelt	Liq. cerebrosp. des Paralytikers No. III mit Meerschw.-Niere behandelt	Liq. cerebrosp. des Paralytikers No. III mit Menschenniere behandelt
0,2	θ	k. L.	k. L.	k. L.
0,1	f. k. H.	k. L.	k. L.	k. L.
0,05	k. L.	k L.	k. L.	k. L.

Die Menschenorgane stammten von einer Leiche mit Herzfehler.

Versuch VII.

Menge des Serums	Ser. luet. No. XIV unbehandelt	Ser. luet. No. XIV mit Menschenleber behandelt	Ser. luet. No. XIV mit Meerschw.-Leber behandelt	Ser. luet. No. XV unbehandelt	Ser. luet. No. XV mit Menschenniere behandelt	Ser. luet. No. XV mit Meerschw.-Niere behandelt
0,2	θ	θ	θ	θ	θ	θ
0,1	θ	θ	θ	θ	st. L.	st. L.
0,05	θ	θ	k. L.	θ	k. L.	k. L.

Die Menschenorgane stammten von einer Phthisikerleiche.

Versuch VIII.

Menge des Serums	Ser. luet. No. XVI unbehandelt	Ser. luet. No. XVI mit Meerschw.-Leber behandelt	Ser. luet. No. XVI mit Meerschw.-Niere behandelt	Ser. luet. No. XVII unbehandelt	Ser. luet. No. XVII mit abgetöteten Choleravibrionen behandelt	Ser. luet. No. XVII mit Meerschw.-Herz behandelt	Ser. luet. No. XVIII unbehandelt	Ser. luet. No. XVIII mit Meerschw.-Milz behandelt	Ser. luet. No. XVIII mit pulverisierter Hundeleber behandelt[1]
0,2	θ	k. L.	k. L.	θ	θ	k. L.	θ	θ	k. L
0,1	f. k. L.	k. L.	k. L.	θ	θ	k. L.	k. L.	k. L.	k. L
0,05	k. L.	k. L.	k. L.	θ	θ	k. L.	k. L.	k. L.	k. L

In diesen Versuchen gelangten neben den Organen von Meerschweinchen solche von Menschen zur Anwendung, da wir ja wissen, daß auch diese einen zur Reaktion brauchbaren Extrakt liefern. Ein Unterschied in absorbierender Fähigkeit zwischen Menschen- und Meerschweinchenorganen tritt nicht zutage. Im letzten Versuche haben wir auch mit pulverisierter Hundeleber ein luetisches Serum erschöpft und das gleiche Resultat, wie die Tabelle zeigt, erzielt.

Wenn wir unsere Versuche zusammenfassend überblicken, so können wir die Behauptung aufstellen, daß es uns mit zwei Ausnahmen (Serum No. IV und No. XIV) stets gelungen ist, durch Behandlung mit Organzellen die luetischen Sera in ihrer komplementabsorbierenden Fähigkeit zu erschöpfen oder stark abzuschwächen. Das Versagen in den beiden Fällen ist wohl darauf zurückzuführen, daß es sich hierbei um sehr stark wirksame Sera gehandelt hat, so daß bei 0,05 ccm die unterste Titergrenze noch lange nicht erreicht war. Es war uns leider nicht möglich, diese Sera behufs weiterer Untersuchung ein zweites Mal zu bekommen.

Was die Stärke der Absorptionsfähigkeit der Organe betrifft, so wirken am stärksten Herz, dann Leber und Niere, viel schwächer und öfters gar nicht Gehirn und Milz; völlig wirkungslos erweisen sich Leukocyten und rote Blutkörperchen. Es ist dieselbe Reihenfolge, in welcher die betreffenden Organe einen brauchbaren Extrakt liefern.

Spricht schon dieser Umstand gegen die Ansicht, daß es sich bei der von uns festgestellten Tatsache einfach um eine Absorption von antikörperartigen Stoffen durch korpuskuläre Elemente handelt, eine Tatsache, die Landsteiner festgestellt hat, so sind unserer Ansicht nach die Experimente gegen die Uebertragung dieser Befunde auf die vorliegende Frage beweisend, in denen es nicht gelungen ist, die Antikörper spezifischer Immunsera durch Organzellen in ihrer Wirkung zu beeinträchtigen. Bei diesen erweisen sich nur die entsprechenden Bakterien wirksam, welche wiederum bei den luetischen Seris vollkommen versagen.

Wenn wir auf Grund unserer Versuche uns zur Anschauung bekennen, daß die Stoffe in den luetischen Seris antikörperartiger Natur sind, welche in den Zellen parenchymatöser Organe ein Antigen finden, was wir durch den Ehrlichschen Bindungsversuch nachgewiesen haben, so wäre noch dem Einwand zu begegnen, daß auch ohne diese Annahme bei Aufeinanderwirken zweier Stoffe im Sinne einer Kolloidreaktion beide

---

[1] Zur Behandlung mit pulverisierter Hundeleber wurde je 0,3 g zu 1 ccm Serum ndet.

Stoffe verschwinden müssen. Dieser Einwand hat sicher viel Berechtigung. Wenn wir aber derartige nicht spezifische Reaktionen genauer untersuchen, wie z. B. die Gelatineagglutination der Bakterien (Weil, Centralbl. f. Bakteriol. etc. Orig. Bd. 37. 1904. Heft 3) oder die Agglutination von Kaninchenblutkörperchen durch Linsenextrakt (Römer, v. Graefes Arch. f. Ophthalmol. Bd. 60. 1905), so sehen wir, daß hierbei eine Erschöpfung nur sehr schwer und ganz unvollkommen gelingt. Bei unseren Versuchen aber gelingt es genau so leicht, durch Zellbehandlung die luetischen Sera unwirksam zu machen, wie dies bei spezifischen Antikörpern durch spezifische Antigene zu erzielen ist. Dieser Umstand spricht mit größter Wahrscheinlichkeit für die Antikörpernatur der Stoffe der luetischen Sera. Daß Leukocyten und rote Blutkörperchen unwirksam sind, beruht darauf, daß diese Zellen artspezifische Antigene besitzen, welche den Zellen aus einem Organverbande zu fehlen scheinen. Die letzteren also sind es, welche die Ausbildung der komplementbindenden Stoffe in den luetischen Seris bedingen, und betreffs der Art und Weise, wie dies zustande kommt, möchten wir uns der Ansicht von **Weil** und **Braun** anschließen.

Nachdruck verboten.

Aesculin bile salt media for the isolation of B. coli and B. typhosus.

By **F. C. Harrison** and **J. Vanderleck,**
Bacteriological Laboratories, Macdonald College, P. Q. Canada.

With 5 figures.

The importance of the reaction of media as a controlling factor in the development of biological characters is well known, and in our former papers on "Aesculin Bile Salt Media" nothing was mentioned about the acidity of the media, because at that time the question of the right acidity had not troubled us. After the reading of the paper at the meeting of the American Public Health Association, and its subsequent publication, we received several inquiries from laboratory workers who had tried the media with only partial success; about the same time we had some difficulty in the preparation of the media in our own laboratory. The unsatisfactory results at first ascribed to a shortage in the amount of iron citrate were found to be due to the incorrect acidity.

Our remarks in previous papers (1) as to the utility of the medium for the isolation and determination of B. coli still hold good, and it is the purpose of the present paper to give specific directions for making aesculin media; relate our experiments on acidity, with some theoretical explanations, and a description of the cultural characters of the typhoid group, when growing in aesculin media.

Preparation of aesculin bile salt agar.

The directions for making a litre of aesculin bile salt agar are as follows: Boil until dissolved 15 grams of agar, 2,5 grams commercial bile salt, and 10 grams peptone (Witte) in 1000 c. c. of distilled water. Neutralise with a normal solution of sodium hydrate. Cool below 60° C, add the whites of two eggs or a sufficient quantity of a solution of

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

albumen, bring to the boil and filter as soon as the albumen has coagulated properly. Try the acidity and neutralise if necessary, and then add to the clear hot filtrate, 1 gram aesculin (Merck) and 1 gram iron citrate scales (Merck). After these substances are dissolved test the acidity with decinormal soda solution. It will be found to be about + 0,6, as a solution of 1 gram iron citrate scales in 1000 c. c. water gives an acidity of + 0,56. In case the acidity is too high add alkali until the reaction is + 0,6, and if the acidity is too low add more iron citrate until the reaction is + 0,6. By following these directions exactly, satisfactory and even results will be obtained. We have to emphasize here the different manner of neutralisation from that recommended for ordinary media by the Committee on Standard Methods of the American Public Health Association, as the procedure outlined above is absolutely necessary. The main point of our reaction is the forming of the black coloured salt in sufficient quantity to form an easily visible field. This leads us to consider the properties of salt solution as they are explained by physical chemistry. The colon bacillus acting on aesculin in the absence of other sugars breaks it down to glucose and aesculetin. The glucose is assimilated and the aesculetin gives with iron (ferri) salts a black discolouration. To obtain a reaction with aesculetin the iron salt must be dissociated, as it is the iron ions which produce the combination. We need as many iron ions as are necessary to convert a sufficient quantity of aesculetin into the black salt to form a plainly visible black field. In liquid aesculin media the concentration of the iron ions is of no importance, as at the moment the state of equilibrium is destroyed currents in the liquid supply more ions, and we obtain a diffuse discolouration.

Although agar plates contain only 1,5 per cent of solid matter currents are impossible, and all changes must take place by diffusion. As soon as all the iron ions are combined in the immediate vicinity of the colony, the black salt cannot increase in amount until new iron ions are brought to that part by diffusion. This diffusion takes some time, and in the meanwhile the aesculetin which is also subject to diffusion has spread over a larger area, is in consequence diluted, and thus causes a field of larger dimensions but of less prominent colour (brown, Isabellinus of Saccardo (2). Our practical experience amply confirms these statements.

In the directions for the preparation of aesculin media it has been stated that an acidity of +0,6 obtained by the addition of iron citrate gave the best results, and it is now necessary to outline and explain the theoretical considerations.

Iron citrate is a combination of a strong acid and a weak base, and following van 'tHoff's law, hydrolysis will take place. Thus

$$\begin{array}{lcl} C_3H_5O\,(COO)_3\,Fe & = & Fe + C_3H_5O\,(COO)_3 \\ \text{Citrate of iron} & = & \text{Iron} + \text{citrate} \\ Fe(\text{ions}) + H + HO & = & Fe(OH)_3 + H \end{array}$$

This change will continue until there is an equilibrium between the iron ions and the citric acid.

As soon as we add alkali the equilibrium is upset and very important changes result. For a better conception of these changes we shall give the physical chemical equations representing the reaction.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

1) $H + OH = H_2O$ $\qquad$ $K = \text{Constant}$
$C_1 \times C_2 = K$ $\qquad$ $C_1 \times C_2 = K$

2) fe + citrate = fe citrate $\qquad$ $\frac{C_3 \times C_4}{C_5} = K_1$
$C_8 \times C_4 = C_5 \times K_1$

3) $fe + 3OH = fe(OH)_3$ $\qquad$ $C_3 \times C_2 = K_2$
$C_3 \times C_2 = K_2$

4) 3H + citrate = H citrate $\qquad$ $\frac{C_1 \times C_4}{C_6} = K_3$
$C_1 \times C_4 = K_3 \times C_6$

We add NaOH
$NaOH = Na + OH$ $\qquad$ $\frac{C_7 \times C_2}{C_8} = K_4$
$K_4 \times C_8 = C_7 \times C_2$

The addition of NaOH means an increase in C_2

(1) $C_1 \times C_2 = \text{Constant.}$

a) Conclusion. C_1 decreases as much as C_2 increases.

(3) $C_3 \times C_2 = \text{Constant.}$

b) Conclusion. C_3 decreases as much as C_2 increases.

From conclusions a) and b) we infer that C_3 and C_1 decrease to the same extent.

C_8 = Iron ions. C_1 = Hydrogen ions.

The acidity of a liquid is dependent on the number of H ions. At neutral point there are no H ions and as $C_8 = C_1$, the number of Fe ions must be also zero.

The most important result is that there are no Fe ions in a neutral medium.

We have $\frac{C_1 \times C_4}{C_6} = \text{Constant}$

C_1 = naught C_6 = naught.

Thus both have changed to the same extent.

Conclusion. C_4 is unchanged.

As we might expect, the number of citrate ions is unchanged. And

$$\frac{C_3 \times C_4}{C_5} = \text{Constant}$$

C_3 is naught. C_4 is unchanged.

Conclusion. C_5 must have changed to the same extent as C_3 therefore C_5 = zero, which gives us a result that all the iron citrate has disappeared after neutralisation. We might have expected this, because iron citrate is completely dissociated, and iron hydrate being insoluble falls out of solution.

In determining the acidity of our iron citrate solution we used as much alkali as was necessary to change all the iron into iron hydrate. One gram of iron citrate scales (Merck) has an acidity of +5,6, but one gram of pure iron citrate, molecular weight 285, a tribasic salt, should have an acidity of +12,2, consequently our own iron citrate scales contained $\frac{5{,}6}{12{,}2} = 45{,}7$ per cent iron citrate.

To recapitulate
a) The formation of the black salt is dependent on the iron ions.
b) The number of iron ions is equal to the number of hydrogen ions.
c) The number of hydrogen ions determines the acidity.

From these three points we may draw the conclusion that irrespective of the percentage of iron citrate, the intensity of the black fields in

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

aesculin media stands in direct relation to the acidity, provided that at least $+0,6$ of the acidity proceeds from the added iron citrate.

To prove the above we made the following media and tested them with colon bacillus.

Distilled water, 1,5% agar, 0,25% bile salt, 1% peptone, neutralised and filtered and added 0,1% aesculin, final reaction made neutral.

A. To this medium varying amounts of iron citrate scales were added as follows:

0,4%	iron	citrate,	acidity	$+2,6$,	neutralised	to	$+0,6$
B. 0,3%	„	„	„	$+1,8$	„	„	$+0,6$
C. 0,2%	„	„	„	$+1,2$	„	„	$+0,6$
D. 0,1%	„	„	„	$+0,65$	„	„	$+0,6$
E. 0,02%	„	„	„	$+0,12$,	made acid	„	$+0,6$

Three plates were made from each medium (A. B. C. D. and E.) with different amounts of B. coli:

1) containing 25 colonies, 2) containing 11 colonies, and 3) containing 2 colonies.

The plates were poured in the following way:

One half cubic centimetre of the bacterial suspension was placed in a Petri dish and well mixed with 10 c. c. of the medium, after the plates had hardened 10 c. c. of the medium was poured on top; this prevented the forming of surface colonies and reduced the result of evaporation in the incubation. The appearance of the plates before the growth of colonies was as follows:

A. B. C. pale brown tone, colour increasing with the amount of iron citrate. D. E. very clear, slight yellow colour. After 24 hours incubation at 37° C the plates were examined. A. B. C. D. were very satisfactory in number of colonies and appearance of black fields, but E. was a complete failure. Comparing A. B. C. D. with one another, D. attracted attention by the clear contrast between the medium and the black colonies, and by the large size of the colonies. They were at least twice as large as the colonies on the other plates and kept increasing in size during the second day, until their diameter was more than 3 mm.

It is not necessary to discuss why the method of neutralisation recommended by the American Public Health Association is impossible with aesculin media. Complete neutralisation precipitates all the iron, and it is only a defect in the filtration if iron is retained in the form of colloidal iron hydrate. This iron hydrate is dissolved again when hydrochloric acid is added. Neutralisation after the addition of the iron citrate may be a correction, but never part of the manipulation.

The previous directions for the making of aesculin bile salt agar only hold good for the analyses of those substances which are added in small quantities. Should large quantities of the material for analysis be added the results are apt to suffer. For example, if we place 5 c. c. of water in a Petri dish and add two tubes of aesculin bile salt agar, each containing 8 c. c. of the medium, we have a dilution of 20 per cent.

Media stored in plugged test tubes lose considerable water by evaporation, hence, it can be used with advantage for such tests as the mentioned, but in some cases, it may be necessary to change the medium for certain specific uses.

Three points have to be observed in the preparation of bilesalt aesculin agar media, and the neglect of any of these makes the media useless.

A. The minimum amount of aesculin in pure crystal form (Merck) must be 0,1%. Less aesculin endangers the reliability of the test, more produces no noticeable effect. Aesculin is an expensive product, so that it is not advisable to use more than is absolutely necessary.

B. The amount of iron citrate (scales, **Merck**) must be at least 0,1 %, as already explained.

We shall mention here, however, one case in which more iron citrate 0,3 % was used without subsequent neutralisation. We were testing spring water for B. coli and could not find any in 50 c. c. water. For greater accuracy we filled a half gallon bottle with the spring water, added peptone, aesculin and bile salt and incubated at 37° C. At the end of 24 hours contents of the bottle were black, and some of the water was plated with aesculin agar, but the liquefying alkali bacteria were so numerous in the water after incubation that they made the plates alkaline, and we had diffuse brown plates, where we expected to find black colonies. As the colon bacillus was in such small numbers compared with the alkaline forms we tried to improve conditions by increasing the acidity of the plates. Two ways were possible; a) by the addition of acid; b) by the addition of iron citrate. Both methods were tried. The mark was made +2,0 and 5 c. c. of the blackened springwater was added to the plates and then incubated at 37° C. After 7 days incubation three black colonies appeared on the b) plates, which were identified as B. coli. The a) plates never showed any bacterial development. This is an example of a case in which the amount of iron citrate could be increased. Such acid plates are not transparent, as the bilesalt becomes cloudy as soon as the acidity is over +1,1.

C. The acidity of the media should be +0,6. A greater acidity interferes with bacterial growth, while a smaller acidity favours the development of too many bacteria, which crowd the plates too much, besides the defect of the iron concentration already mentioned.

The experimental data upon which the recipe for aesculin bile salt agar already given was based were as follows:

I. Experiments re acidity.

Distilled water, 1,5 % agar, 1 % peptone, 0,25 % commercial bile salt; boiled, neutralised and filtered, 0,4 % iron citrate (scales) and 0,1 % aesculin were then added. Acidity +2,7.

The media were tested with river water containing B. coli, the varying degrees of acidity being obtained by the addition of sodium hydrate.

Acidity	Appearance of colonies of B. coli.
+0	Abundant growth, no fields, plate brown colour.
+0,3	„ „ , light brown, but large fields.
+0,5	A few colonies of B. coli, darker fields.
+0,6	Black, well formed fields.
+0,75	Smaller black fields and fewer colonies.
+1,0	Very small black points.
+1,3	No fields at all, plates cloudy.

A repetition of this test with acidities +0,6 and +0,75 showed that acidity +0,6 was by far superior.

II. Experiments concerning the relation between acidity and the amount of iron in the formation of black fields.

The medium used was the same as in Experiment I, except acidity and amount of iron citrate. River water containing B. coli, milk, B. coli and B. lactis aërogenes were used in the following tests:

Acidity	0,0	0,1 %	iron	Light brown fields.
„	„	0,2 %	„	Better growth, light brown fields, plate brown.
„	„	0,3 %	„	Good growth, somewhat darker fields, plate brown.
„	„	0,4 %	„	„ „ somewhat darker fields, plate brown.
„	„	0,5 %	„	Poor growth, plate too dark in colour to see fields.

All fields in the above experiments were too large and too faint.

Acidity	+0,5	0,1 %	iron	Good growth, dark brown fields.
„	„	0,2 %	„	Better „ „ „ „
„	„	0,3 %	„	Very good growth, dark brown fields.
„	„	0,4 %	„	„ „ „ „ „ „
„	„	0,5 %	„	Poor growth, dark, brown fields, agar in plate too dark for clear outlines of the fields.

Acidity	+0,75	0,1 %	iron	Poor growth, black fields.
„	„	0,2 %	„	„ „ „ „
„	„	0,3 %	„	„ „ black, very small fields.
„	„	0,4 %	„	„ „ „ „ „ „
„	„	0,5 %	„	Very little growth, black very small fields.

This test shows clearly by the very small colonies formed that the acidity was too much.

Acidity	+1	0,1 %	iron	Poor growth, black fields.
„	+1	0,2 %	„	Good growth, black fields, but small in size.
„	+1	0,3 %	„	Good growth, black fields but small in size.
„	+1	0,4 %	„	Poor growth, black fields but small in size.
„	+1	0,5 %	„	No growth.

The following test was conducted on another principle. Plates were made from river water with slight differences in the acidity and amount of iron in the medium. These plates were incubated at 37° C, examined after 48 hours and from the best plates the acidity was determined, while the amount of iron added was known before.

As the quantity of the medium used was known, and the evaporation in the incubation could not have influenced the total amount of acid, the original acidity could be easily estimated.

Medium as already described with 0,5 % iron citrate scales acidity +0,5. Tests made with river water containing B. coli.

Different amounts of iron citrate.

0,3 %	acidity	+0,57	Black, well defined colonies.
0,4 %	„	+0,72	Well defined colonies.
0,5 %	„	+0,90	„ „ „ but smaller in size.

Iron citrate increased to 0,8 % with varying amounts of acid.

Acidity	+1,2	Black fields, small in size.
„	+0,4	„ „ very small in size.
„	+0,6	„ well defined field of good size.

These tests show clearly:

1) That any amount of iron is insufficient as soon as the acidity is less than +0,6.

2) That aesculetin is formed and diffuses whether iron is present or not.

That dissociated iron is necessary for the test is shown graphically by the following diagrams, which represent three practical experiments.

Experiment 1. A Petri dish with aesculin medium containing 0,01 % of iron citrate, acidity +0,6, with colonies of B. coli.

I. The dark shaded portion represents the darkening or blackening of the field, due to the diffusion of the iron citrate.

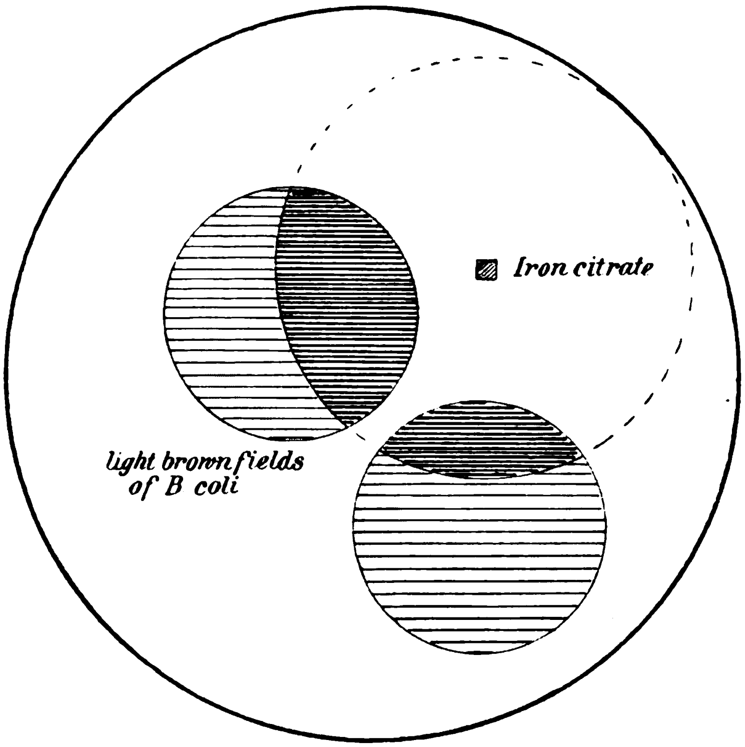

▨ Iron citrate
light brown fields of B coli

Diagram 1.

Experiment 2. A Petri dish with aesculin medium containing 0,2 $^0/_0$ of iron citrate, acidity +0,2, with colonies of B. coli.

II. The dark shaded portion represents the darkening or blackening of the field, due to the diffusion of the hydrochloric acid, that has dissolved again the iron citrate.

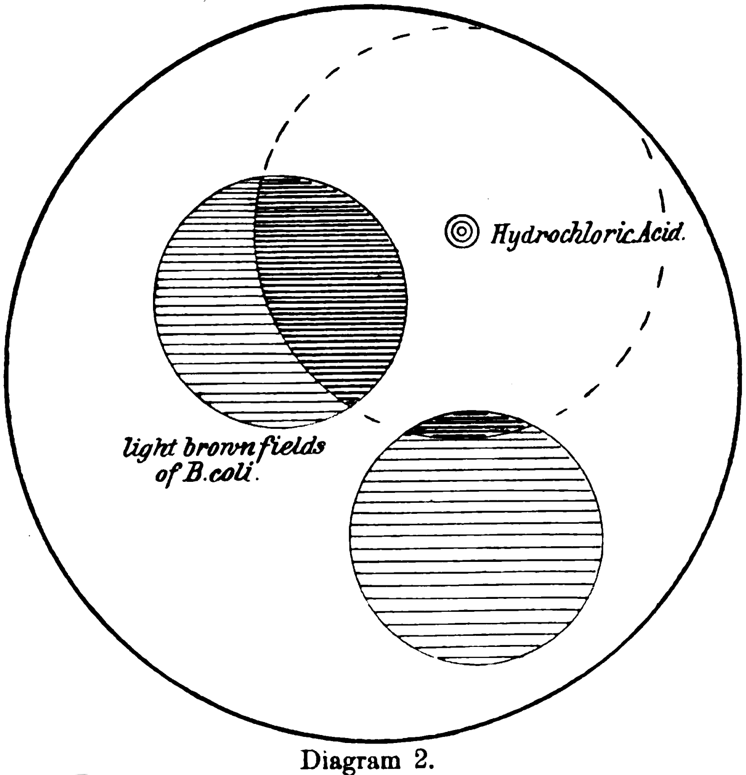

◎ Hydrochloric Acid.
light brown fields of B.coli.

Diagram 2.

Experiment 3. Petri dish with aesculin medium containing 0,01 % of iron citrate, acidity +0,6, with colonies of B. coli.

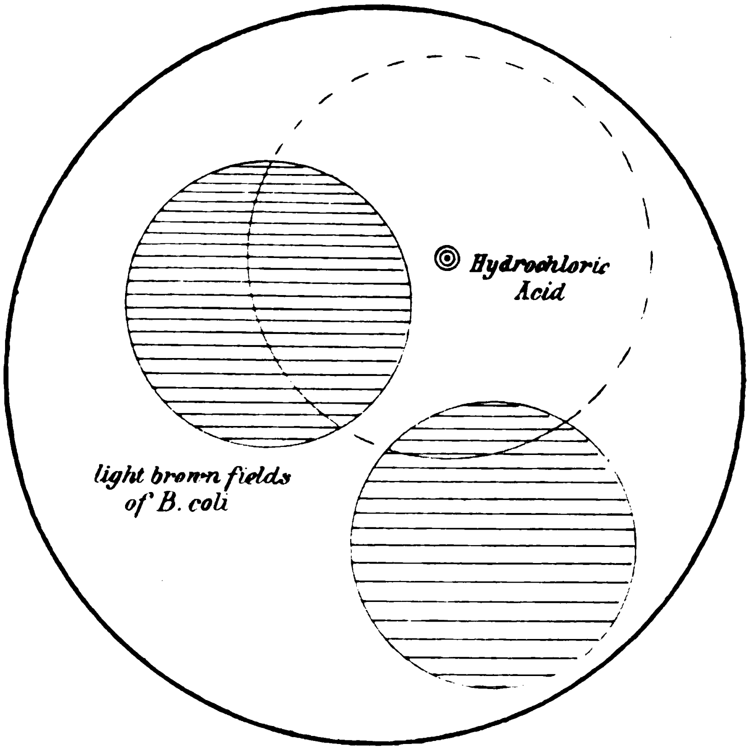

Hydrochloric Acid
light brown fields of B. coli

Diagram 3.

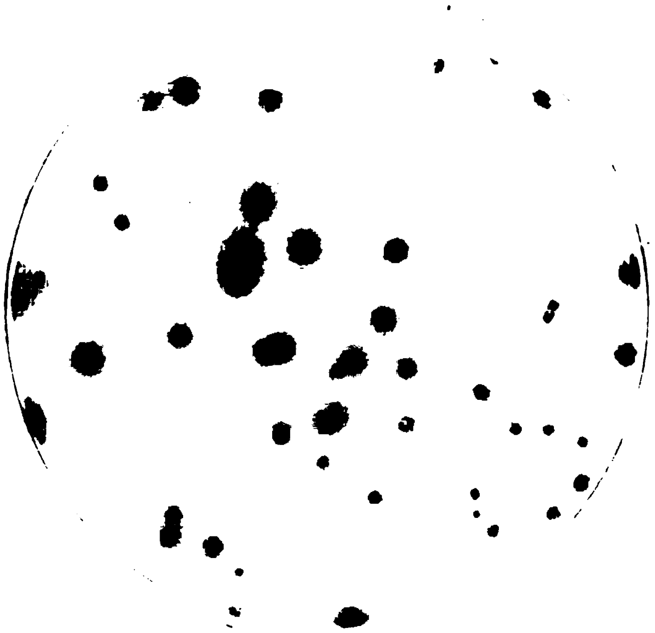


Plate I. Photograph (positive) of colonies of B. coli growing in beef-peptone-aesculin bile-salt agar. 20 hours at 37 ° C.

III. No change has taken place in this case, although the hydrochloric acid has diffused just the same.

We desire to emphasize the difference between submerged and surface colonies. All submerged colonies of B. coli and B. aërogenes as well as varities of these organisms have the same appearance. The colony is jet black, surrounded by a black halo or field; the colour is only intense immediately around the colony. Plate I is a photograph (positive) of some submerged colonies of B. coli grown at 37° C for 20 hours.

The surface colonies have greater variety of appearance. We may obtain with varieties of B. coli and B. aërogenes:

1) A black colony with no field.
2) A small black colony with a large field.
3) A black colony with a white ring lying on a black field.
4) A large shiny brown colony with a brown field, which usually indicates B. lactis aërogenes.

The following diagrams illustrate these differences.

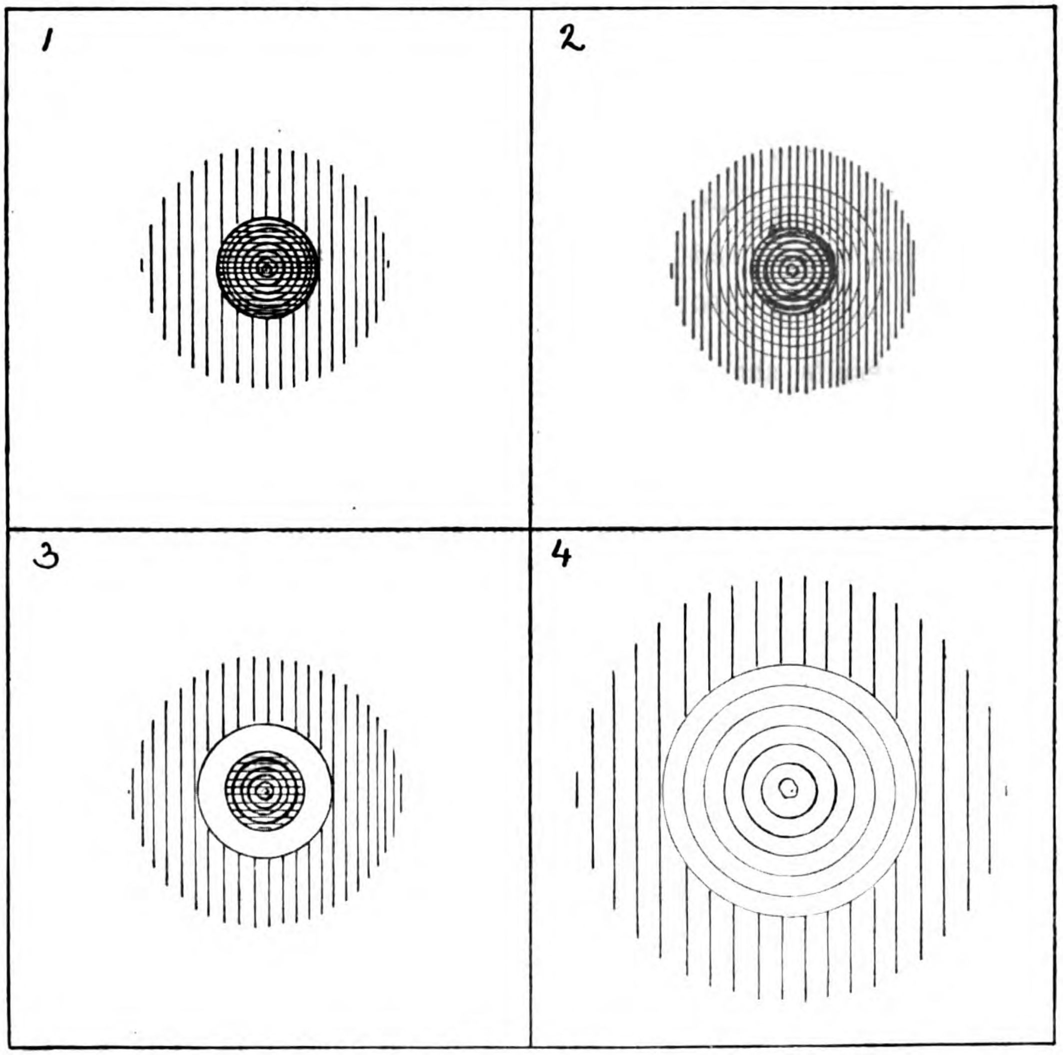


Diagram 4.

The probable explanation of these differences between submerged and surface colonies is that the same amount of enzyme works in a smaller area, in the case of the former colonies. The amount of glucoside available is also greater in the case of the submerged colony.

In thin layers the colour of the aesculetin iron is brown — between Latericius and Badius of Saccardo (2), and in some instances as light in colour as Isabellinus.

Another point investigated was the effect of Liebig's meat extract when used for the preparation of aesculin media. Liebig's meat extract contains a certain amount of glycogen, and it is well known that sugars at times interfere with enzyme reaction, for the only advantage bacteria can obtain from the splitting of glucosides is the formation of carbohydrates, which they need for food. When carbohydrates are present in abundance no enzyme is needed, and experience has shown that no aesculin is formed in the presence of carbohydrates.

The following media were made as follows:

Distilled water, 1,5 % agar, 0,5 % peptone, 0,25 % bile salt 0,1 % iron, aesculin 0,1 %.

Final Acidity + 0,6 — no Liebig's extract — very good plates.
„ „ „ 0,05 % „ „ „ „ „ colonies brown in colour.
„ „ „ 0,10 % Liebig's extract — crowded plates with light brown colonies.
„ „ „ 0,15 % Liebig's extract — crowded plates with light brown colonies.
„ „ „ 0,20 % Liebig's extract — crowded plates with light brown colonies.
„ „ „ 0,25 % Liebig's extract — crowded plates with no colored colon colonies.
„ „ „ 0,30 % Liebig's extract — crowded plates with no colored colon colonies.

These results show clearly that the Liebig meat extract had an injurious influence on the medium.

There exists some doubt concerning the identity of the enzyme which acts on the glucoside aesculin. The general belief is that it is the enzyme "emulsin" which causes the reaction (3). There is, however, cause to doubt this statement. Emulsin obtained from bitter almonds (Amygdalus communis) splits among other enzymes salicin. B. coli, however, is unable to split salicin, as we tried to replace aesculin by salicin, but without result. Therefore, we are bound to conclude that the enzyme of B. coli and B. aërogenes cannot be Emulsin.

Aesculin in liquid media.

We have repeatedly tried aesculin in liquid media for the purpose of isolating B. coli from large samples or water. Two different lots were made up.

A. In 1000 c. c. distilled water we dissolved by boiling
20 grams peptone, Witte,
0,5 grams aesculin,
0,5 „ iron citrate scales.

Reaction was made + 0,6, and the medium was filtered.

B. In this medium the same proportion of ingredients was used as in A, but with the addition of 3 grams of commercial bile salt (Sodium taurocholate). The final acidity was + 0,6.

These media were filled into test tubes, about 10 c. c. in each tube.

The water for analysis was added in quantities not exceeding 5 c. c. per tube.

The tests with culture medium A. (without bile salt) gave the following results.

In a series of 77 tests the tubes were black in 24 hours in 40 cases. Subcultures in aesculin agar plates shewed black colonies in 48 hours at 37° C. In 25 cases the tubes were black in 24 hours at 37°, but it took 120 hours to develop black colonies on aesculin agar plates. In 12 tests the tubes were unchanged after 48 hours at 37°. Subcultures in aesculin agar gave no black colonies in 168 hours at 37°.

Ninety tests were carried out with culture medium B. (with bile salt). In 20 tests the tubes were black in 24 hours, and subcultures on aesculin plates showed black colonies in 24 hours. In 35 tests the tubes were black in 48 hours, and subcultures on aesculin plates showed black colonies after 24 hours.

In 30 tests the tubes were unchanged in colour after 48 hours; subcultures on aesculin agar developed, however, black colonies in 120 hours. In 5 tests, tubes and subcultures on plates remained unchanged (168 hrs.).

In most of the above tests we used both varities of media for the same sample of water and observed that the culture medium without bile salt (A) blackened quicker than the medium with bile salt (B). Undoubtedly weak individuals of B. coli are checked in their growth by the bile salt. A very good instance of this was obtained from some experiments on the duration of life of B. coli in river water. We inoculated river water with a strong B. coli giving pronounced black colonies in aesculin media.

Every week part of this water was subcultured, and we noticed that the ability of B. coli to produce typical colonies on aesculin media gradually decreased, and at one time the culture would produce black discoloration in aesculin media without bile salt, but was without effect on liquid aesculin media containing bile salt. This differentiation enables us to distinguish between an old and a new infection, or between a strong or weak species.

In the preparation of liquid media only 0,05 % of aesculin and iron citrate are necessary as compared with the 0,1 % in the solid media. This gives satisfactory results, because the total amount of aesculin is available, and the depth of the liquid intensifies the colour, through the latter fact the expense of aesculin tests with large quantities of water (1 liter) is not much more than the expense of small tests.

Several tests were made to see if it were possible to detect B. coli in river water and isolate it when only one bacillus was present in a liter of water.

This test was conducted as follows: River water was sterilised in large Erlenmeyer flasks, and a small quantity of fresh river water added, which was analysed quantitatively at the same time. To the flasks was added a certain amount of the following medium:

1000 c. c. distilled water, 1 g. aesculin, 2 g. iron citrate, 20 g. peptone, acidity + 1,5.

Test I — analyses of river water, No. of colon in 5 c. c. respectively, 7, 8, 6, 9, 7, average $1^1/_2$ per c. c.

Flask	Water	River water added	Amount of aesculin medium added	Black in 24 hrs.	Black col on subc. plates
I.	1000	$^1/_2$ c. c.	100 c. c.	+	+
II.	1000	1 „	100 „	+	+
III.	1000	2 „	100 „	+	+
IV.	1000	1 „	50 „	+	+
V.	1000	1 „	30 „	+	+
VI.	1000	1 „	10 „	light green	+
VII.	2000	$^1/_4$ „	50 „	—	—
VIII.	2000	$^1/_{10}$ „	50 „	—	—

Flask VI. was too diluted to show a black colour; in this case we had only in one bottle 10 mg. aesculin in 1000 c. c. water or 0,001 $^0/_0$, but flask V. with 0,003 $^0/_0$ aesculin was quite effective.

These results show the reliability of this test, and enable us to detect slight infection with B. coli in potable waters.

Preparation of aesculin.

Chemically pure aesculin is expensive, but for bacteriological purposes a commercial product suffices, which may be easily prepared. This glucoside is obtained from several plants, but can be most advantageously extracted from the bark of the horse chestnut (Aesculus hippocastanum). Between January and March, or January in southern latitudes, is the best time to collect the bark, as the amount of glucoside in the tree is then at its maximum.

The bark may be stored in a dry condition for an indefinite time, and may be used as wanted. The bark is cut into small pieces and extracted with hot water for a few hours, when the extract will contain aesculin, aesculetin and tannin. The two last substances must be removed, as they form black compounds with iron salts; therefore, neutral lead acetate in excess is added to the watery extract, after which evaporate to dryness and extract the residue with hot water, then filter.

The filtrate will be free from aesculetin and tannin, but contains a considerable amount of lead, which is precipitated with ammonium carbonate, and filtered off. The filtrate is evaporated to a syrup, and the ammonium is thus driven off. The complete removal of the ammonia is indicated by the syrup turning acid.

The syrup is not chemically pure, but is sufficiently pure for bacteriological work.

Confirmatory tests of black colonies.

The following table is an example of the results obtained by testing all the black colonies on aesculin agar plates. Twenty-five colonies were subcultured from four plates made from river water. It will be seen that all were either B. coli or B. aërogenes, excepting numbers 13 and 16. These liquefied gelatin, but gave the usual characteristics of B. coli. Similar instances to this are mentioned by Conn and Esten (5).

Besides these tests given below, about 200 black colonies have been tested from our weekly water analyses, all with positive results.

Results of subcultural tests from black colonies on aesculin bile salt agar plates inoculated with river water:

	Gelatin			Milk			Lact. Litm. broth		Neutral red glucose broth		Indol
	Morphol.	liquefying	motile	Acid	Coagul.	Gas	Acid	Gas	Fluor.	Gas	
1	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+
2	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+
3	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+
4	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+
5	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
6	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
7	+	—	+	+	—	—	+	+	—	+	+
8	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+
9	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+
10	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
11	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+
12	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
13	+	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+
14	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
15	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
16	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+
17	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
18	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
19	+	—	+	+	—	—	+	+	—	+	+
20	+	—	+	+	—	—	+	+	—	+	+
21	+	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+
22	+	—	+	+	—	—	+	+	+	+	+
23	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+
24	+	—	+	+	+	—	+	+	—	+	+
25	+	—	—	+	+	—	+	+	+	+	+

The growth of B. typhosus and other organisms in aesculin media.

We were able to obtain a number of varieties of B. typhosus, Paratyphosus, B. dysenteriae, etc., from Dr. J. G. Adami, Professor of Pathology, McGill University, and Dr. C. W. Duval, formerly pathologist of the Montreal General Hospital, and we wish to thank these gentlemen for their interest in out work, and to record our appreciation of their kindness.

The cultures sent us were as follows:

1064 B. typhosus isolated from gall bladder, autopsy 131 — 1908.
308 „ „ „ „ bile at operation.
965 „ „ „ „ gall bladder, autopsy 108 — 1908.
965^2 „ „ „ „ „ „ „ „ „
496 „ „ „ „ mesenteric gland.
1011 „ „ „ „ gall bladder, autopsy 119 — 1908.
407 „ „ „ „ blood ante mortem.
370 „ „ „ „ a case of osteomyelitis.
330 „ „ „ „ bile.
1011 „ „ „ „ liver substance, autopsy 119 — 1908.
896 „ „ „ by Dr. Duval.
1064 „ „ „ from gall bladder, autopsy 131 — 1908.
345 B. paratyphosus isolated from an appendix abscess.
526 „ „ „ „ urine — case of cystitis.
997 „ „ „ „ a pus cavity in abdomen, autopsy 116 — 1908.
973 „ „ „ „ a subcutaneous abscess, autopsy 109 — 1908.
488 „ „ „ „ an abscess from hip.
B. paratyphosus α isolated by Longicope. Philadelphia.
„ „ β „ „ „ „
„ „ Paracolon (?) Source unknown.

Growth of B. typhosus and other

Organism	A. Aesculin agar plates	B. Aesculin peptone	C. Aesculin peptone bile salt
B. coli from sewage	Black colonies with field	Jet black in 24 hours	Jet black in 24 hours
„ „ „ faeces	idem	idem	idem
„ „ „ river water	„	„	„
1064 B. typhosus	Good growth, no black colonies in 72 hours	No blackening in 72 hours	No blackening in 72 hours
308 „ „	idem	idem	idem
965 „ „	„	„	„
9652 „ „	„	„	„
496 „ „	„	„	„
1011 „ „	„	„	„
407 „ „	„	„	„
370 „ „	„	„	„
330 „ „	„	„	„
1011 „ „	„	„	„
896 „ „	„	„	„
1064 „ „	„	„	„
345 Paratyphosus	„	„	„
526 „	„	„	„
997 „	„	„	„
973 „	„	„	„
488 „	„	„	„
Paratyphosus α	„	„	„
„ β	„	„	„
„ (Paracolon)	„	„	„
B. dysenteriae (Duval)	„	„	„
„ „ (Flexner)	„	„	„
B. faecalis alcaligenes	„	„	„
B. of Hog cholera	„	„	„
B. of Asiatic cholera	White colonies, good growth	No change in medium	No change in medium

organisms in aesculin media.

D. Aesculin peptone Liebig	E. Aesculin Liebig bile salt	F. Aesculin glycerine	G. Aesculin am. lactata
Jet black in 24 hours	Jet black in 24 hours	Jet black colonies, small	Black colonies, small
idem	„ „ „ 72 „	No black colonies	Brown colonies, 72 hrs.
„	„ „ „ 24 „	Jet black colonies	Black colonies
Turbid precipitate no blackening in 72 hours	Turbid precipitate, but no blackening in 72 hours	Very slight growth, no black colonies 72 hours	Very slight growth, no black colonies in 72 hours
idem	idem	idem	idem
„	„	„	„
„	„	„	„
„	„	„	„
„	„	„	„
„	„	„	„
„	„	No visible growth in 72 hours	No visible growth 72 hours
„	„	Very slight growth, no black colonies	Very slight growth, no black colonies
„	„	idem	idem
„	„	„	„
„	„	„	„
No blackening in 72 hours	No blackening in 72 hours	„	„
idem	idem	„	„
„	„	„	No visible colonies in 72 hours
No blackening in 72 hours, slight brown colour 12 days	„	„	idem
Turbid precipitate, no blackening in 72 hours	Turbid precipitate, no blackening in 72 hours	„	„
idem	idem	„	„
„	„	Good growth, no black colonies	Good growth, no black colonies
„	„	Slight growth, no black colonies	Slight growth, no black colonies
No blackening in 72 hours, clear, light brown in 12 days	No blackening in 72 hours, clear, light brown in 12 days	idem	idem
No blackening in 72 hours	No blackening in 72 hours	„	„
idem	idem	Slight growth, no black colonies in 72 hours	„
Very heavy dense ppt. 24 hrs. ppt. settled, occupy $^1/_2$ amount in tube 72 hrs. no blackening	Very heavy dense ppt. 24 hours settled in 72 hours no blackening	No visible colonies in 72 hours	No visible colonies in 72 hours
No change in medium	No change in medium	idem	idem

B. dysenteriae (Duval) a lactose fermenting and mannite splitting variety (6).
„ „ (Flexner) isolated in the Phillippines — a mannite splitter.
B. fecalis alcaligenes isolated by Duval.
B. of Hog Cholera — (Th. Smith).
B. of Asiatic Cholera from A. C. Abbott, Philadelphia.

All of these species and varieties were first grown on sets of ordinary media to see if they were typical in their biological characters. For this purpose the following media constituted a set, — beef peptone gelatine, beef peptone agar, glucose neutral red broth, litmus lactose broth, saccharose broth, litmus milk, litmus whey, Dunhams's solution (for indol).

It seems unnecessary to record any data concerning this test, except the deviations from normal characters. All the varieties of typhoid were normal; paratyphoid — 345 was undistinguishable from typhoid; paratyphoid 526 gave slight traces of indol; paratyphoid 997 gave a strong indol reaction, paratyphoid 973 and 488 gave a little gas and fluorescence in neutral red glucose broth, acid reaction in litmus lactose, and indol reaction; paratyphoid α gave a little gas and fluorescence in neutral red glucose, and an alkaline reaction in milk in 12 days; paratyphoid β. gave a little gas and slight fluorescence in neutral red glucose broth, strong alkaline reaction in milk (12 days), and an indol reaction.

The tests of these organisms were made on several combinations of the aesculin media — both solid and liquid, and also includes the simple synthetic media for the isolation of B. coli from water suggested by Dolt (4), and modified by the addition of aesculin. Fuller particulars follow.

A. Aesculin-agar, made up according to the formula already given.

B. Aesculin-peptone, made up of water, 1 % peptone, 0,25 % iron citrate, 0,1 % aesculin — acidity + 1,0.

C. Aesculin-peptone-bile-salt, made up of water, 1 % peptone, 0,5 % commercial bile salt, 0,25 % iron citrate, 0,1 % aesculin-acidity + 1,0.

D. Aesculin-peptone-Liebig, made up of 1 % peptone, 0,2 % Liebig's meat extract, 0,25 % iron citrate, 0,1 % aesculin, — acidity + 1,0.

E. Aesculin Liebig bile salt, made up of 1 % peptone, 0,2 % Liebig's meat extract, 0,5 % commercial bile salt, 0,25 % iron citrate and 0,1 % aesculin — acidity + 1,0.

F. Aesculin glycerine, etc., made up of agar 1,5 %, glycerine 0,5 %, ammonium phosphate 0,1 %, iron citrate 0,25 %, aesculin 0,1 % — acidity + 0,4.

G. Aesculin ammonium lactate etc., made up of agar 1,5 %, ammonium lactate 0,5 %, disodium phosphate 0,1 %, iron citrate 0,25 % and aesculin 0,1 % — acidity + 0,4.

The last two media F. and G. were made according to the directions of Dolt (4), but with iron citrate, and aesculin added. In the table, B. coli isolated from sewage, faeces and river water are included for the sake of comparison (see Table p. 620 and 621).

These results show that the typhoid bacillus, as well as paratyphoid forms, do not produce black colonies on aesculin media. These organism grew well, however, presenting characters similar to those on such media as beef peptone agar, peptone solutions, and beef peptone bouillon; hence

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

these experiments suggested that we could use aesculin media for the isolation of B. typhosus from excreta and other sources in the same manner as the Drigalski-Conradi medium. We have tried the aesculin media for mixtures of B. coli and B. typhosus, with good results.

In addition to the results given in the table, cultures of all these organisms have been made on sloped aesculin agar — only the colon bacillus turned this medium black, all the others grew well but produced no discoloration.

The synthetic media of Dolt combined with aesculin, did not give very satisfactory results. When the colon bacillus grew in these media, black colonies with fields were formed, but they were as a rule very small and not distinct. In a second series of experiments we doubled the amount of chemicals in these media and added aesculin, in our endeavour to obtain larger fields, but the results were no better than before. For the growth of B. typhosus and B. dysenteriae, Dolt's media with aesculin did not give good results; growth was limited in amount with the majority of species, and in some cases no growth could be seen after 72 hours incubation at 37° C.

References.

1) Harrison and Vanderleck, Centralbl. f. Bakt. Abt. II. Bd. 22. 1909. p. 547 and 551.
2) Saccardo, Chromotaxia seu nomenclator colorum. Patavii 1894.
3) Beilstein, Organische Chemie. 3. Aufl. p. 566 and 608.
4) Dolt, M. L., Simple synthetic media for the growth of B. coli and for its isolation from water. (Journ. of Infect. Diseas. V. 1908. p. 616.)
5) Conn and Esten, Report of the Storrs Agl. Expt. Stat. 1904. p. 9.
6) Duval, C. W., Journ. Amer. Med. Assoc. 1904. — Duval and Schoerer, Memoirs Rockefeller Instit. Medic. Research. 1904.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde" richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Cano, Umberto, Ueber die Wirkung einiger chemischer Stoffe auf das fixe Virus, p. 583.

Carapelle, Eduardo und **Ferrara, Vincenzo,** Einfluß besonderer indifferenter chemischer Stoffe auf die Umwandlung der pathogenen Bakterien in Impfstoffe, p. 564.

Cecchetto, E., Zur Kenntnis der Trachomkörperchen, p. 536.

v. Eisler, M., Ueber Wirkungen von Salzen auf Bakterien, p. 546.

Emmerich, Rudolf, Berichtigung der Behauptungen des Herrn Dr. Icilio Bocchia in seinem Aufsatz „Die Pyocyanase“, Bd. 50. p. 220 dieser Zeitschrift, p. 580.

Fein, S., Studien über Serumanaphylaxie, p. 576.

Fermi, Claudio, Wieder über die besondere Virulenz meines fixen Virus, p. 520.

Friedrichs und **Gardiewski,** Massenerkrankungen an Fleischvergiftung durch Bac. enteritidis Gärtner im Standort Metz (April 1909), p. 509.

Galli-Valerio, B., Notes de parasitologie et de technique parasitologique, p. 538.

Galli-Valerio, B. und **Rochaz de Jongh, J.,** Zur Frage der Eier von Culex cantans, p. 545.

Harrison, F. C. and **Vanderleck, J.,** Aesculin bile salt media for the isolation of B. coli and B. typhosus, p. 607.

Heyrovsky, Hans, Durch Bakteriengifte erzeugte „Purpura haemorrhagica“, p. 501.

Kersten, H. E., Ueber einen neuen säure- und alkoholfesten Erdbacillus, nebst kurzen Bemerkungen über die zu seiner Isolierung angewandten Methoden (Antiforminmethode nach Uhlenhuth und Kersten), p. 494.

Küster, E., Das Freiburger hämorrhagische Mäusecarcinom, p. 497.

Levy, E., Ueber die Erzeugung von tuberkulösen Lungenkavernen im Tierexperiment und deren Bedeutung, p. 476.

Moriya, Gozo, Ueber die Umwandlungshypothese und Lebensdauer des Tuberkelbacillus, p. 480.

Neufeld, F., Zur Frage der Identität von Tropinen und Lysinen, p. 572.

Pinzani, Gino, Ueber das Vorkommen der Lentzschen Passagewutkörperchen und ihre Spezifizität, p. 522.

Pollak, Richard, Ueber einen Fall von Actinomycespyämie mit retrograder Embolie, p. 529.

Repetto, R., Vergleichende Untersuchungen zwischen dem gegen Lyssa immunisierenden Vermögen der normalen Nervensubstanz und des Pasteurschen Vaccins bei Muriden, p. 581.

Selter, Ueber Indolbildung durch Bakterien, p. 465.

Siegel, J., Ein neuer parasitärer Hyphomycet des Menschen, p. 515.

Toyosumi, H., Ueber die komplementbindenden Stoffe luetischer Sera, p. 601.

Volpino, Guido, Weitere Beobachtungen über Vaccinevirus, p. 518.

Weil, E., Bemerkungen zur Arbeit Petterssons: „Ueber die Wirkung der Leukocyten bei intraperitonealer Cholerainfektion“, p. 574.

Zlatogoroff, S. J., Die Reaktion der Komplementbindung (Bordet-Gengou) bei Ileotyphus, p. 587.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 51. Heft 6.

Nachdruck verboten.

Zur Frage des Magenmilzbrandes.

[Aus dem pathol.-bakteriol. Institut der Landeskrankenanstalt in Brünn
(Vorstand: Prof. Dr. C. Sternberg).]

Von Dr. **Julius Stein.**

Unter den Milzbranderkrankungen des Menschen tritt der innere Milzbrand gegenüber dem äußeren an Häufigkeit weit zurück. In den bekannt gewordenen Fällen von innerem Milzbrand bildet in der Regel der Respirationstrakt die Eintrittspforte des Erregers, und dementsprechend befällt die Krankheit vorzugsweise jene Berufsklassen, welche mit sporenhaltigem Materiale zu arbeiten gezwungen sind, bezw. sich in Räumen aufhalten, deren Luft reichlich Milzbrandsporen enthält.

Es gilt dies vor allen für Hadernsammler, Arbeiter in Papierfabriken, Bürstenbinder, Wollsortierer etc., daher auch die Bezeichnung Hadernkrankheit, woolsorters disease.

Weit seltener als der Lungenmilzbrand ist beim Menschen der Fütterungsmilzbrand, der beim Tiere die Regel bildet. Dabei ist die Frage, ob es einen primären Magenmilzbrand gibt, noch offen; von vielen Autoren wird sie verneint. Strauss und Wurz, sowie Kurlow und Wagner kommen auf Grund ihrer Versuche zu dem Schlusse, daß Milzbrandbacillen im Magen von Hunden, Hammeln und von Menschen in $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde zugrunde gehen. Sigwart gibt an, daß Milzbrandbacillen durch Trypsin und Pepsin bei Gegenwart von Salzsäure verdaut werden.

Auch Baumgarten ist der Ansicht, daß „primärer Magenmilzbrand kaum denkbar ist, weil die Milzbrandbacillen durch den sauren Magensaft vernichtet werden. Die Sporen widerstehen zwar der Einwirkung dieses Saftes; aber als Sporen können sie nicht pathogen wirken, und sowie sie auskeimen, werden die jungen Keimlinge sofort im Magensafte zerstört“.

In diesem Zusammenhange erschien uns ein Fall, den wir unlängst zu beobachten Gelegenheit hatten, von besonderem Interesse, da in demselben sowohl nach dem anatomischen und histologischen Bilde, als auch nach den anamnestischen Erhebungen die Annahme einer primären Milzbrandaffektion des Magens gerechtfertigt erscheint.

Am 9. Nov. 1908, um 8 Uhr früh wurde der in einer Preßtücherfabrik beschäftigt gewesene 31-jährige Arbeiter A. R. in die hiesige Landeskrankenanstalt aufgenommen.

Patient gibt an, seit 4 Tagen krank zu sein. Die Krankheit begann bei ihm plötzlich mit Schmerzen auf der Brust und starker Dyspnoë. Er glaubte zu ersticken, konnte weder inspirieren, noch aushusten. Außerdem klagte er über heftige Schmerzen im Bauche, welche er in die Magengegend lokalisiert. Starkes Kältegefühl. Unter rasch zunehmendem Kräfteverfall starb der Kranke am nächsten Tage.

Sektionsbefund (Prof. Dr. Sternberg). Körper mittelgroß, kräftig gebaut, gut genährt. Die allgemeine Decke blaß, mit reichlichen Totenflecken auf der Rückseite. An den oberen und unteren Extremitäten stark ausgesprochene Totenstarre. Die weichen Schädeldecken gerötet; das Schädeldach ziemlich breit und geräumig. Die harte Hirnhaut gespannt; die inneren Hirnhäute zart und durchsichtig. Die Hirnsubstanz mäßig blutreich, etwas feuchter. Bei Eröffnung der Bauchhöhle fließt mäßig reichlich milchig getrübte Flüssigkeit ab. Das Unterhautzellgewebe der Bauchdecken mäßig fettreich, jenes über dem Sternum und den seitlichen Thoraxwandungen bis ins Jugulum ödematös durchtränkt. Nach Eröffnung des Thorax erscheint das Zellgewebe im vorderen Mediastinalraum blutig durchtränkt und finden sich daselbst zwei kirschengroße, weiche, hämorrhagische Lymphdrüsen. Die linke Lunge an ihrem vorderen Rande angewachsen, im Pleuraraume reichlich klare, seröse Flüssigkeit. Die Lunge am Durchschnitt mäßig lufthaltig, blaß, nirgends verdichtet oder infiltriert. Die rechte Lunge frei, ihre Pleura glatt und glänzend, im Pleuraraume reichlich ($1^{1}/_{2}$—2 l) klare, seröse Flüssigkeit. Am Durchschnitt das Gewebe allenthalben lufthaltig, blaß; nur an der medialen Fläche des Oberlappens, unmittelbar am Eintritte des Bronchus, finden sich zwei umschriebene, derbe, hämorrhagische, luftleere Knoten.

Im Herzbeutel reichlich klare, seröse Flüssigkeit. Das Herz in beiden Kammern leicht vergrößert, die Wand verdickt, Klappen zart und schlußfähig; die Aortenintima glatt. Das Herzfleisch etwas bleicher. Die Milz etwa auf das Doppelte vergrößert, weicher, am Durchschnitte gefleckt, indem hellrote und dunklere Partien abwechseln. Die Pulpa nur sehr wenig abstreifbar. Die Leber von gewöhnlicher Größe, mit glatter blaßbrauner Oberfläche. Am Durchschnitt die Zeichnung deutlich, die Farbe blaßbraun. Die Gallenblase mäßig mit dünner Galle gefüllt. Der Magen enthält eine geringe Menge flüssigen Inhalts. In seiner Schleimhaut finden sich knapp unter der Cardia, im Fundusanteile und längs der kleinen Curvatur zahlreiche stippchenförmige bis höchstens hirsekorngroße, ziemlich scharf umschriebene, hellrote Knötchen, welche im Zentrum weißgelblich gefärbt sind. Ungefähr 7 cm unterhalb der Cardia findet sich in der hinteren Wand des Magens ein scheibenförmiger, runder, ca $1^{1}/_{2}$ cm im Durchmesser haltender, flach prominierender, schiefergrau gefärbter Plaque, der im Zentrum eine Depression aufweist und genau in der Mitte schwarzrot gefärbt ist. Sonst die Schleimhaut des Magens im Fundus sehr blaß, so daß die beschriebenen Knötchen sich scharf abheben, während die übrige Schleimhaut der hinteren Wand bis zum Pylorus diffus gerötet und leicht mamelloniert erscheint. Im Dünndarm dünnbreiiger, graugelber, schmieriger Inhalt; die Schleimhaut im allgemeinen unverändert, nur stellenweise im unteren Ileum streifig gerötet und — kleinen Fältchen entsprechend — in geringer Ausdehnung schwarzrot verfärbt. Im Dickdarm geformte Massen. Die Schleimhaut ohne Befund. Die Nieren von gewöhnlicher Größe mit leicht abziehbarer Kapsel; ihre Oberfläche glatt, braunrot. Die Zeichnung der Rinde deutlich, die Marksubstanz etwas dunkler. Die Harnblase leer, die Schleimhaut blaß. Genitale ohne Veränderung. Die Lymphdrüsen längs des Pankreas beträchtlich vergrößert und ebenso wie die gleichfalls vergrößerten Lymphdrüsen an der Radix mesenterii weich, sehr markig, dunkel gerötet. Die Zunge ohne Veränderung. Tonsillen etwas größer, schiefergrau, Oesophagus in seiner ganzen Ausdehnung blaß, desgleichen die Schleimhaut des Larynx. Die Trachea leicht gerötet. Die Wand des linken Hauptbronchus mit grauem Schleim bedeckt, die Schleimhaut oberflächlich nekrotisch, darunter mit kleinen, fleckigen und streifigen, schwarzroten Blutungen bezeichnet. Der rechte Hauptbronchus an seiner Teilungsstelle verdickt, in kronenstückgroßer Ausdehnung düster schwarzrot verfärbt; die oberflächlichen Schichten der Schleimhaut ebenfalls grau, nekrotisch; kleine schwarzrote Flecken und Streifen finden sich auch im Anfangsteile der Bronchialäste. Das Zellgewebe längs der Trachea, namentlich an der Bifurkation in der Umgebung des Oesophagus schwappend, hämorrhagisch-sulzig durchtränkt. Hier sowohl wie namentlich zu beiden Seiten der Trachea finden sich mächtig vergrößerte, markige, dunkelschwarzrote, weiche Lymphdrüsen.

Diagnose: Anthrax bronchi dextri et ventriculi cum intumescentia glandularum lymphaticarum mediastinalium et mesenterialium. Oedema haemorrhagicum mediastini anterioris et posterioris. Oedema parietis anterioris thoracis. Hydrothorax bilateralis. Ascites. Tumor lienis acutus.

Zur bakteriologischen Untersuchung gelangte die Oedemflüssigkeit aus dem Mediastinum, die Eintrittsstelle des Bronchus in die rechte Lunge, die Milz, die mediastinalen und mesenterialen Lymphdrüsen und die Ascitesflüssigkeit. Während aus der Oedem- und Ascitesflüssigkeit nur spärliche Kolonieen wuchsen, gingen aus der Lunge, aus der Milz und den mediastinalen Lymphdrüsen sehr reichlich Milzbrandbacillen in Reinkultur auf, die sich im Tierversuch als sehr virulent erwiesen (subkutan geimpfte weiße Mäuse gingen nach 20 Stunden zugrunde). Nur aus den mesenterialen Lymphdrüsen gingen fremde Kolonieen auf, während Milzbrandbacillen in denselben nicht zu finden waren.

Histologischer Befund: Vom Magen gelangte ein Streifen zur histologischen Untersuchung, auf welchem 3 Knötchen zugleich getroffen wurden. Die Schleimhaut zwischen den Effloreszenzen ist vielleicht etwas zellreicher, indem zwischen den Drüsen etwas reichlicher Lymphocyten und Leukocyten, darunter auch Plasmazellen angesammelt sind. Sonst die Schleimhaut ohne Veränderung. Im Bereiche der Knötchen ist die Schleimhaut beträchtlich verbreitert, so daß buckelförmig über die Oberfläche hervorragende Herde entstehen. Innerhalb derselben findet sich eine mächtige, dichte Infiltration aus einkernigen, größtenteils aber mehrkernigen Leukocyten bestehend, durch welche die Drüsen deutlich komprimiert werden, so daß sie durchweg nur auffallend schmale Lumina zeigen. Die oberflächlichen Anteile dieser Herde weisen umfängliche

Blutungen auf. Die zartwandigen Lymphgefäße im Bereiche dieser Herde sind mächtig erweitert und bilden weite, mit Leukocyten und einem zarten, fädig-krümeligem Netze gefüllte Räume, die ausschließlich im Bereiche der Knötchen, nicht aber in dem zwischen ihnen gelegenen Stücke der Magenschleimhaut zu finden sind. Ferner finden sich im Bereiche der beschriebenen Herde Unmassen von Milzbrandbacillen, welche an der Oberfläche ein überaus dichtes Netz- und Flechtwerk bilden, das nach den tieferen Schichten der Mucosa zu an Umfang allmählich abnimmt, derart, daß bei Gram-Färbung die Oberfläche eines solchen Herdes fast gleichmäßig intensiv blau erscheint, während nach unten zu die Bacillen nur breitere oder schmälere Züge und Straßen bilden. Innerhalb der weiten Lymphgefäße finden sich sehr reichlich Milzbrandbacillen, bisweilen liegen sie in dichtem Haufen den Endothel auf und bilden so förmlich eine Auskleidung der Wand, oft stellen sie ein dichtes Geflecht dar, das ein Lymphgefäß allseits einhüllt. Die beschriebenen Veränderungen sind, wie erwähnt, am intensivsten in den obersten Schichten der Mucosa ausgeprägt, klingen nach abwärts allmählich ab und schneiden fast mit scharfer Grenze mit der Muscularis mucosae ab. Diese weist — entsprechend der Basis der Knötchen — noch eine geringe Zellinfiltration auf, während das submucöse Gewebe zwar aufgelockert, ödematös durchtränkt ist, sonst aber keinen wesentlichen Befund darbietet. Die Lymphgefäße daselbst sind vielleicht etwas weiter; die Blutgefäße zeigen keine Veränderung; desgleichen nicht die Muscularis des Magens und die Serosa. Milzbrandbacillen sind außerhalb der Muscularis mucosae im allgemeinen nicht mehr zu finden; nur vereinzelt liegen sie in den unmittelbar angrenzenden Lagen der Submucosa, wobei es sich offenbar um Artefakte (Verstreifen der Bacillen durch das Mikrotommesser) handelt.

Vom rechtem Hauptbronchus wurde ein Stückchen der durch streifige und fleckige Blutungen bezeichneten Stelle histologisch untersucht. Die Schleimhaut ist — entsprechend dieser Stelle — beträchtlich verbreitert und im weitem Umfange durchblutet, wodurch buckelförmige Hervorragungen zustande kommen. Innerhalb derselben sieht man vereinzelt zwischen den roten Blutkörperchen schmale Züge von ein- und mehrkernigen Leukocyten. Die Blut- und Lymphgefäße sind beträchtlich erweitert. Die umfänglichen Blutungen reichen bis an den Knorpel, jenseits desselben zeigt die Bronchuswand keine Veränderung. Bei Gram-Färbung finden sich innerhalb der durchbluteten Schleimhaut sowie in den seitlich angrenzenden Partieen größere Mengen von Milzbrandbacillen, und zwar im allgemeinen in den tieferen Schichten der Mucosa reichlicher als in den oberflächlichen. In den Blut- und Lymphgefäßen sind nur vereinzelt Bacillen enthalten, wobei es auch hier fraglich erscheint, ob diese nicht künstlich hineinverstreift wurden.

An dem untersuchten Stückchen aus dem Ileum ist die Schleimhaut an einer umschriebenen Stelle verbreitert; daselbst sind sowohl die Blut- als auch die Lymphgefäße stark erweitert und bilden weite Räume. Die Schleimhaut selbst ist sehr zellreich und vorwiegend von polynukleären Leukocyten durchsetzt, an der Kuppe dieses Herdes nekrotisch. Bei Gram-Färbung finden sich im Bereiche dieser nekrotischen Anteile reichlich grampositive Bacillen, die aber nach Form und Größe anscheinend nicht Milzbrandbacillen entsprechen. In den tieferen Lagen der Schleimhaut hingegen finden sich innerhalb der zelligen Infiltrate überall reichlich Milzbrandbacillen. In den Blut- und Lymphgefäßen sind solche nicht zu finden.

Die untersuchten Lymphdrüsen erwiesen sich durchwegs als sehr zellreich, so daß Markstränge und Sekundärknötchen sich kaum abgrenzen lassen. Die Blut- und namentlich die Lymphräume sind sehr stark erweitert und gefüllt. Bei Gram-Färbung erscheint fast allenthalben ein reiches Fibrinnetz. Milzbrandbacillen sind — entgegen dem kulturellen Befunde — in allen untersuchten Lymphdrüsen, wenn auch in relativ geringer Zahl, nachweisbar.

Nach dem anatomischen und histologischen Verhalten erweisen sich mithin die am Bronchus sowohl als auch am Magen vorgefundenen Veränderungen als typische Milzbrandeffloreszenzen. Die im Bronchus vorgefundenen Veränderungen zeigen jenes Aussehen, welches bereits von Kundrat so treffend beschrieben wurde (citiert nach Paltauf): „Die Schleimhaut der Luftwege mehr oder minder katarrhalisch affiziert, in den meisten Fällen Trachea und auch die großen Bronchien mit stecknadelkopf- bis linsengroßen, prominenten, nekrotischen Stellen bezeichnet, um die die Schleimheit dunkel gerötet, injiziert, von Hämorrhagieen durchsetzt, infiltriert, die Subserosa sulzig, trüb-serös infiltriert. Nur in einem Falle fanden sich solche Herde auch auf der Schleimhaut des Intestinaltraktes auf der Höhe der Falten im oberen Teile bis ins Jejunum hinab.“

Es entsteht nun die Frage, ob uns die histologische Untersuchung über den Weg der Infektion Aufschluß geben und darüber aufklären kann, ob der Herd des Bronchus oder der des Magens als Eintrittspforte für das Virus anzusehen sind. In dieser Beziehung scheinen uns die Herde im Magen — lediglich vom anatomischen Standpunkte betrachtet — am leichtesten zu deuten zu sein. Das makroskopische Bild namentlich des größeren Herdes entspricht ganz dem Aussehen von Milzbrandkarbunkeln. Die histologische Untersuchung ergibt keinerlei Anhaltspunkte für die Annahme, daß es sich hier um sekundäre, embolisch durch Verschleppung auf dem Wege der Blutbahn zustande gekommene Effloreszenzen handelt, wie sie ja beim Milzbrand sonst die Regel sind. Das stärkere Ergriffensein der oberflächlichen Schichten der Mucosa, das Abklingen der Veränderungen nach abwärts bei vollkommen intakter Submucosa und Muscularis legt den Schluß nahe, daß es sich hier um eine primäre Affektion der Magenschleimhaut, hervorgerufen durch Eindringen der Bacillen von der Oberfläche her handelt. Insbesondere möchten wir hier auch auf die starke Mitbeteiligung der Lymphgefäße bei Freibleiben der Blutgefäße Gewicht legen, einen Befund, auf den **Paltauf** zuerst aufmerksam machte und den er für die Diagnose des primären Milzbrandherdes verwerten möchte.

Weniger eindeutig sind die Veränderungen im Bronchus, doch entsprechen auch diese dem Bilde eines Primäraffektes.

Wir hätten es mithin nach dem anatomischen und histologischen Verhalten mit einer doppelten Infektion auf dem Wege des Respirations- und Digestionstraktes mit Beteiligung der regionären Lymphdrüsen zu tun. Hingegen scheint uns weder das anatomische noch das histologische Verhalten den Schluß zu rechtfertigen, daß einer dieser Herde — und zwar der Häufigkeit entsprechend der Bronchusherd — primär, der andere — also der des Magens — sekundär embolisch zustande gekommen wäre. Dagegen spricht ja auch der Umstand, daß der ganze übrige Körper von Metastasen frei war. Es wäre immerhin auffallend und schwer zu erklären, daß, wenn nur der Herd im Bronchus der primäre wäre, ausschließlich im Magen, bezw. Darm Metastasen zustande gekommen sein sollten.

Von großer Bedeutung scheint uns endlich das Ergebnis der Erhebungen zu sein, welche Herr Stadtphysikus-Stellvertreter Dr. **Kokall** in der Fabrik, in welcher der Verstorbene beschäftigt war, gepflogen hat. In dieser Fabrik, in welcher (namentlich aus Rußland importierte) Roßhaare verarbeitet werden, kamen schon wiederholt Milzbrandfälle zur Beobachtung. Ueber einen solchen Fall hat **Theodorow** vor 2 Jahren aus unserem Institute berichtet; es gelang damals auch, an den Roßhaarproben Milzbrandbacillen, resp. Sporen nachzuweisen. Durch die Erhebungen wurde nun festgestellt, daß der verstorbene Arbeiter hinter dem Rücken des beaufsichtigenden Meisters nicht desinfiziertes Material in Verwendung zog und daß er — entgegen den strengen Vorschriften der Fabrik — seine Mahlzeiten mit ungereinigten Händen im Arbeitsraume selbst zu sich nahm.

Diese Art der Infektion erinnert an den von **Dittrich** beschriebenen Fall. Hier kam es zu einer Milzbrandinfektion des Magen-Darmkanales bei einem Manne, der mit Teilen milzbrandkranker Tiere zu tun hatte und wiederholt ohne jede Vorsicht mit ungereinigten Händen aß.

Auch der von **Lengfellner** beschriebene Fall zeigt eine ähnliche Art von Infektion. Hier handelte es sich um einen 50-jährigen Leder-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

arbeiter, bei dem eine Milzbrandpustel an der linken Halsseite auftrat. Der Kranke — starker Säufer — riß sich im Delirium den Verband weg und steckte die mit Wundsekret verunreinigten Finger in den Mund. Bei der Sektion wurde eine ausgedehnte Milzbranderkrankung des Darmes gefunden.

Rembold (zit. nach Paltauf) beobachtete 1877 auf seiner Klinik eine Arbeiterin aus einer Papierfabrik, welche im Leben die Erscheinungen einer linksseitigen Pneumonie und Pleuritis mit typhösen Erscheinungen bot. Die Sektion ergab neben der Affektion der Lunge und Pleura zahlreiche Herde auf der Schleimhaut der Trachea und der Bronchien, ferner im Magen und Duodenum mit Mycosis intestinalis übereinstimmende Veränderungen.

Außer dieser Beobachtung finden sich in der späteren Literatur noch mehrere Fälle, bei welchen auf Milzbrand beruhende Veränderungen im Magen und Darmkanal — zum Teil auch vergesellschaftet mit Erkrankungen der Respirationsorgane — gefunden wurden, so die Fälle von Weichselbaum, Zörkendörfer, Lerch, Poelchau, Jaworsky und Nencki, Krumbholz, Schütte, Nebolubow, Berka, Teacher u. a. In den meisten dieser Fälle liegen aber keine näheren Angaben über den Infektionsweg vor. In dem von Krumbholz beschriebenen Falle ergab die histologische Untersuchung, daß die Milzbrandbacillen durch die Lymphgefäße des Darmes eingedrungen waren, sie fanden sich in großer Zahl in den Lymphkapillaren der Darmwand, fehlten hingegen in den Blutgefäßen.

Was nun die eingangs angeführten Einwände gegen die Möglichkeit einer primären Infektion des Magens anlangt, so ist doch wohl die Vorstellung zulässig, daß nach Verschlucken von Milzbrandsporen unter Umständen — z. B. bei entsprechender Füllung des Magens — die hier auskeimenden Milzbrandbacillen bisweilen gegen die Wirkung des Magensaftes Schutz finden können und dann imstande sind, einen Primäraffekt im Magen zu setzen. Aehnliches gilt ja auch von anderen Bakterien, die, wie z. B. Tuberkelbacillen, in der Regel die Magenwand nicht angreifen, während sie im Darme so überaus häufig Läsionen setzen. In seltenen Fällen können jedoch auch Tuberkelbacillen Veränderungen der Magenschleimhaut hervorrufen.

In unserem Falle halten wir uns demnach auf Grund der erhobenen Tatsachen und des geschilderten Befundes zu dem Schlusse berechtigt, daß die Milzbrandsporen, die teils mit der Atmungsluft, teils mit der Nahrung eingeführt wurden, sowohl im Bronchus als auch im Magen auskeimten und an beiden Stellen zur Infektion führten.

Literatur.

Paltauf, Zur Aetiologie der Hadernkrankheit. (Wien. klin. Wochenschr. 1888. No. 37 u. 38.)
Dittrich, Primäre Milzbrandinfektion des Magen-Darmkanals. (Wien. klin. Wochenschrift. 1891. No. 47.)
Kolessnikow, Zur Kasuistik des Darmmilzbrandes beim Menschen. (Russkaia Medicina. 1891. No. 37.)
Krumbholz, Zur Pathologie des menschlichen Darmmilzbrandes. (Zieglers Beiträge z. patholog. Anat. Bd. 16. 1894. H. 2.)
Zörkendörfer, Ueber primären Darmmilzbrand. (Prag. med. Wochenschr. 1894. No. 13. p. 145.)
Lerch, Ein Fall von Milzbrand. (Wien. med. Wochenschr. 1894. No. 45.)
Poelchau, Ein Fall von innerem Milzbrand. (Centralbl. f. innere Med. 1895. No. 15.)
Jaworski und Nencki, Milzbrandinfektion klinisch Werlhofsche Krankheit vortäuschend. (Münch. med. Wochenschr. 1895. No. 30.)

Schütte, Anthrax intestinalis beim Menschen. [Dissert.] Göttingen 1894.
Berka, Zur gewerblichen Milzbrandinfektion beim Menschen. (Wien. klin. Wochenschrift 1904. No. 13.)
Lengfellner, Ein Fall von äußerem und innerem Milzbrand. (Münch. med. Wochenschr. 1907.)
Theodorow, Ueber den Nachweis von Milzbrandbacillen an Pferdehaaren. (Wien. klin. Wochenschr. 1907.)
Kokall, Wiener klinische Wochenschr. 1908.
Nebolubow, Ueber einen Fall von multiplen Milzbrand-Plaques. (Wratsch. 1899. No. 9.)
Teacher, Case of human anthrax septicaemy. Infection through the intestine, diffuse meningeal haemorrhagy. (Glasgow med. Journ. 1905.)
Baumgarten, Jahresbericht 1899.
Strauss-Wurz, zit. nach Kolle-Wassermann. Bd. 2.
Kurlow-Wagner, ebenda.
Sigwart, ebenda.

Nachdruck verboten.

Ueber einen Kokkobacillus der menschlichen Bindehaut.

Ein Beitrag zur Kenntnis der gramnegativen Diplokokken.

[Aus der Universitäts-Augenklinik in Freiburg (Baden).
Direktor: Geheimrat Prof. Axenfeld.]

Von **Viktor Ruata,** Assistenten der Universitäts-Augenklinik in Palermo.

Mit 1 Tafel.

Die gramnegativen Diplokokken beanspruchen bekanntlich ein besonderes Interesse auch für die Conjunctiva, besonders wegen der Differentialdiagnose des Gonococcus. Wie Axenfeld in seiner „Bakteriologie in der Augenheilkunde“ (p. 203) ausführt, liegen für die Bindehaut in dieser Hinsicht die Verhältnisse schwieriger als für andere Körperstellen. Denn in der Urethra finden sich erfahrungsmäßig außer den Gonokokken nur sehr selten andere gramnegative Kokken von gleicher Form und Lagerung, so daß der rein morphologische Nachweis in der Urethra mit fast vollständiger Sicherheit das Vorhandensein von Gonokokken beweist. Im Nasenrachenraum andererseits werden gramnegative Kokken nicht für Gonokokken zu halten sein, weil letztere hier erfahrungsmäßig nicht vorkommen und keine pathogene Bedeutung haben, während der Micrococcus catarrhalis und verwandte Keime hier häufig sind, gelegentlich auch der Meningococcus.

Wie die Untersuchungen aus dem Laboratorium von Prof. Axenfeld im Laufe der Jahre ergeben haben (cf. die Arbeiten von Krukenberg, Brons, ferner „Bakteriologie“ [p. 198]) sind auf der Bindehaut, auf welcher ja Gonokokken eine große Rolle spielen, andere gramnegative Diplokokken, die zur Gruppe des Micrococcus catarrhalis gehören, nicht so sehr selten. Besonders die Arbeiten von Brons geben über diese Befunde nähere Auskunft[1]; sie beziehen sich auch auf das (übrigens sehr seltene) Vorkommen von Meningokokken an dieser Stelle.

Auf den Fernerstehenden können diese Feststellungen leicht den Eindruck machen, als ob unter diesen Umständen die mikroskopische Diagnose der Bindehautgonorrhöe stark erschüttert sei. Es ist aber zu berücksichtigen, daß jene Befunde von Micrococcus catarrhalis sich bisher fast nur auf die normale oder leicht entzündete Bindehaut beziehen; bei blennorrhoischer Absonderung, bei heftiger Entzündung hat man sie bisher fast niemals gefunden. Deshalb ist in praktischer Beziehung auch heute daran festzuhalten, daß im allgemeinen in blennorrhoischem und akut-katarrhalischem Sekret typische gramnegative Semmeldiplokokken als Gonokokken anzusehen sind, und jedenfalls wird die Behandlung sich auf diese Wahrscheinlichkeit beziehen.

---

[1] Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 1. 1906. p. 1 und Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 48. 1908. p. 141.

Es ist aber unter diesen Umständen unbedingt erforderlich, daß mit allen Mitteln der Kultur und der genaueren bakteriologischen Untersuchung weiter geforscht wird im Interesse der Differentialdiagnose. Jeder gramnegative Coccus, der von der Bindehaut gezüchtet und genau definiert wird, bietet Interesse, und es wäre sehr zu wünschen, daß auch an anderen Orten konsequent nach solchen Keimen weitergesucht wird.

Ich bin nun bei methodischer Untersuchung von Bindehautsekreten einem eigenartigen, gramnegativen Doppelcoccus begegnet, welcher sich von den bisher bekannten erheblich unterscheidet und deshalb hier näher beschrieben werden soll.

Bakteriologische Untersuchung.

Luise H., 5 Jahre alt, kommt in die Poliklinik mit einer Conjunctivitis pseudomembranacea.

Bei der Untersuchung des Sekretes und der Pseudomembranen in der Bindehaut (nach Gram) finden sich eine große Anzahl von Leukocyten mit wenigen Mikroorganismen, die denen der Diphtherie sehr gleichen, und einige spärliche, kleine, gramnegative Doppelformen, deren Beschreibung folgt.

Der Zustand der Kranken besserte sich sehr schnell nach Injektionen von Behringschem Diphtherie-Heilserum. Sie wurde in einer Woche vollständig gesund.

Von ihrem Conjunctivalsekret wurden Kulturen auf Loefflerschem Blutserum und auf Ascitesagar angelegt. Es entwickelten sich reichliche Kolonieen, welche mikroskopisch ein Gemisch von Diphtheriebacillen, Staphylokokken und gramnegativen Mikroorganismen darstellten.

Nach verschiedenen Uebertragungen gelang es mir, den Diphtheriebacillus in Reinkultur zu isolieren. Impfung auf Meerschweinchen (intraperitoneale Einimpfung von 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur), die innerhalb 3 Tagen den Tod herbeiführte. — Bei der Autopsie ergab sich der charakteristische Befund der Intoxikation durch Diphtheriegift.

Außer den charakteristischen Diphtheriekolonieen fand ich eine einzelne größere, feuchte, saftige, opake Kolonie von zarter gelblicher Farbe, die einen Durchmesser von ca. 1 mm hatte.

Ein Ausstrichpräparat dieser Kolonie, nach Gram gefärbt, zeigte, daß es sich um eine Reinkultur der gramnegativen Mikroorganismen handelte, welche mit denen des Sekretpräparates identisch waren.

Dann gelang es leicht, Uebertragungen von dieser Kolonie auf neue Nährböden zu machen und Reinkulturen zu erzielen, welche die Grundlage meiner Arbeit sind.

Morphologie.

In den Sekretpräparaten bemerkte ich unter zahlreichen Leukocyten, Fibrinfäden und Diphtheriebacillen vereinzelte gramnegative Mikroorganismen, die gut gefärbt, glattrandig und zu Doppelformen vereinigt waren. Ihre Enden sind abgerundet. Zuweilen sind sie lanzettförmig, 0,8 μ lang und 0,5 μ breit; außer diesen gutgefärbten Mikroorganismen waren noch einige andere, größere, gut begrenzte Individuen zu sehen, welche von wechselnder unregelmäßiger Diploform waren, oder unregelmäßige, plumpe, schlecht gefärbte Formen darstellten (Fig. 1 a), die ich für Degenerationsformen halte. Die wenigen Individuen, die sich in diesen Präparaten fanden, lagen stets getrennt von den Diphtheriebacillen und fast immer extracellulär.

In der ersten Generation, d. h. wo er mit dem Diphtheriebacillus gemischt ist (Fig. 1 b), finden sich zahlreiche, streng gramnegative, runde Formen, die mit Vorliebe in Häufchen und nur selten in einzelnen Diploformen liegen, so daß sie ihrer Form und Lage nach den Staphylokokken ähneln. In diesen Präparaten ist es mir nicht gelungen, trotz der größten Aufmerksamkeit, längliche Formen zu entdecken. Die Größe ist wechselnd: die kleinen Formen haben 0,5 μ, die großen 1,3—1,5 μ im Durchmesser.

Diese ursprüngliche Kokkenform, welche ich oben beschrieben habe, ist jedoch unkonstant und kann wesentliche Modifikationen erleiden.

Ihr Verhalten auf verschiedenen Nährböden ist auch noch vom Alter und der Zahl der Generationen abhängig.

Auf 24-stündiger Blutserumkultur hat der Mikroorganismus fast dieselben morphologischen Merkmale wie auf der ersten Blutserumkultur in Mischung mit dem Diphtheriebacillus: einzelne zu zweien gelegene Formen, 1,3×1,5 μ groß, oder unregelmäßige Häufchen; die Formen sind kurz, dick, fast rund, mitunter finden sich Semmelformen und oft sieht man im Zentrum kleine, weiße Vakuolen, welche man vielleicht als einen Degenerationsprozeß ansehen kann. Kettenbildung und längliche Formen fehlen.

Auf 24-stündiger Agarkultur (Fig. 2a) erscheint der Mikroorganismus fast immer in vereinzelten Diploformen oder zu unregelmäßigrn Häufchen vereinigt oder auch in kurzen Ketten von 4—6 Individuen, die zuweilen konfluieren und gebogene oder geschlängelte, 8—10 μ lange Fäden bilden. Auf diesem Nährboden ist seine Form nicht so rund und dick wie auf der Blutserumkultur. Er hat oft eine mehr längliche schlanke Gestalt; die Enden sind abgerundet und stumpf; unter diesen länglichen Diploformen sieht man aber auch plumpe, mehr rundliche Formen, die an die Semmelgestalt des *Gonococcus* erinnern, aber ein wenig größer als diese sind. Die länglichen Diploformen sind von wechselnder Größe, 0,5—1 μ lang und 0,3—0,6 μ breit. Auch hier sieht man oft im Zentrum des bakteriellen Kernes die weißen, oben erwähnten Vakuolen.

Wir müssen hier bemerken, daß die Agarkulturen mit zunehmendem Alter (nach 5—7 Tagen) oft mehr längliche, ovale Formen zeigen und daß nach 30—40 Generationen die kurze, dicke Form auf der Agarkultur nicht mehr so überwiegt, während die schlanken und länglichen Formen immer häufiger und deutlicher hervortreten. Sie sind zuweilen 0,5×1 μ groß (Fig. 2d).

In der Gelatinekultur hat er dieselben Merkmale wie auf den *Loeffler*schen Blutserumkulturen.

In der Bouillonkultur finden wesentliche Modifikationen statt. Auf diesem Nährboden erscheint fast gar nicht mehr die dicke, kurze, rundliche Form, die früher überwiegend war, statt deren sieht man auf einer 24-stündigen Kultur (Fig. 2b) eine große Anzahl von Mischformen, unter denen die schlanke, längliche überwiegt und einen *deutlich bacillären Charakter* zeigt: die Individuen liegen vereinzelt oder zu zweien oder in langen Ketten, welche sogar die Länge von 20 μ erreichen können. Manchmal konfluieren die Ketten und bilden schlangenförmige oder gebogene *Fäden*, welche bisweilen die Länge von 20 μ haben. Diese Fadenbildung ist besonders in 5-tägigen Kulturen (Fig. 2c) reichlich, während sich auf den 24-stündigen Kulturen seltener solche Ketten und Fäden bilden. Die Diploform ist fast konstant: die schlanken länglichen Individuen liegen gern zu zweien mit den Enden vereinigt, die Enden sind abgerundet. Beim Messen dieser Formen mit dem *Zeiss*schen mikrometrischen Okular ergab sich eine Breite von 1—1,5 μ und eine wechselnde Länge von 1—1,5—2—2,5 μ und zuweilen bis 3 μ. Bei der Untersuchung eines Präparates von einer 24-stündigen Bouillonkultur im hängenden Tropfen traten die oben beschriebenen Merkmale noch deutlicher und klarer hervor: diplobacilläre schlanke Formen, meist 1×2 cm groß mit abgerundeten Enden, hin und wieder in Ketten von 2—3—4 Diploformen oder in Fäden von 10—15 μ Länge. Diese Formen sind mit den selteneren, kurzen, plumpen Formen, die zuweilen 1×1,5 μ groß sind und mit einzelnen spärlichen Semmelformen von 1×1 μ Größe und dem *Gonococcus* ähnlicher Gestalt vermischt.

Diese wesentliche und charakteristische Veränderung, welche unser Kokkobacillus auf der Bouillonkultur erleidet, schien mir sehr bemerkenswert zu sein. Deshalb wurde eine Kontrollübertragung von einer 24-stündigen Bouillonkultur gemacht; nach 24 Stunden fand sich in der neuen Kultur abermals die kurze, dicke Kokkenform, welche der Kokkobacillus auf den Agarkulturen hatte.

Es ist also sicher und auch besonders charakteristisch, daß er eine wechselnde Form auf den beiden verschiedenen Nährböden zeigt. Hervorzuheben ist noch, daß er mit zunehmendem Alter größer wird als auf den frischen Kulturen. Die Formen, die man in frischen 24-stündigen Bouillonkulturen beobachtet, sind durchschnittlich 1×2 μ groß, während diejenigen, welche man in den 3—5-tägigen Bouillonkulturen findet, im allgemeinen die Größe von 1,5×2,5 μ haben.

Milch- und Peptonwasserkulturen. Auch auf diesen flüssigen Nährböden wurden dieselben länglichen diplobacillären Formen beobachtet wie in der Bouillonkultur, aber sie sind etwas kleiner (sie überschreiten niemals die Größe von 1×2 μ).

Im Conjunctivalsekret eines Impf-Bindehautabszesses (Kaninchen) erscheint der Mikroorganismus in allen Uebergangsformen, angefangen von der Kokkenform bis zur länglichen Bacillenform, aber er ist in diesem Sekret viel kleiner und die einzelnen Individuen überschreiten nie die Größe von 0,2—0,5×0,5—0,6 μ. Uebrigens ist die Form der einzelnen Individuen dieselbe wie in der Bouillonkultur.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Im Blute einer weißen Maus (Fig. 3a) erscheinen die Formen so überwiegend bacillär und so konstant diploförmig, daß man nach einem solchen Präparat sie mit Sicherheit als einen Diplobacillus bezeichnen könnte. Die Enden sind abgerundet. Die Größe beträgt 2,5—2,7×1—1,2 μ. Unter diesen überwiegend diplobacillären Formen findet sich auch die kurze dicke Form, manchmal mit lanzettförmigen Enden, 1×1,5 μ groß. Sehr selten dagegen sieht man die runde Form und die Semmelgestalt. Es ist auch eine große Anzahl von Degenerationsformen vorhanden, d. h. von plumpen, unregelmäßigen, ungleich gefärbten, undeutlich begrenzten, zu unförmlichen Massen zusammenfließenden Formen.

In der Milz einer weißen Maus (Fig. 3b) finden sich dieselben Formen wie im Blut dieses Tieres und außerdem auch kleinste Formen, 0,3×0.3 μ groß, welche an die auf den Blutserumkulturen beobachteten Formen erinnern. Die Individuen liegen vorwiegend extracellulär und nur vereinzelte intracellulär.

Im Glaskörperexsudat und in dem Vorderkammerexsudat (Kaninchen) haben diese Mikroorganismen dieselben Merkmale wie in den anderen tierischen Geweben; sie sind jedoch viel kleiner und auch die größten Individuen überschreiten nie eine Länge von 0,5—0,7 μ und eine Breite von 0,3—0,5 μ.

Eigenbewegung. Ich habe nach einer Eigenbewegung im hängenden Tropfen von einer sehr jungen, kaum 4-stündigen Bouillonkultur gesucht, weil manche Mikroorganismen ihre Eigenbewegung bekanntlich sehr schnell verlieren, mitunter schon nach 4—6 Stunden — trotzdem aber gelang es mir nicht, irgendeine Eigenbewegung nachzuweisen.

Färbbarkeit. Dieser Mikroorganismus ist streng gramnegativ. Wir haben zu seiner Färbung die gewöhnliche Gramsche Methode angewendet: zuerst Färbung (30 Sekunden) in 5-proz. Gentianviolettlösung; 2) Abspülen in Wasser; 3) 30 Sekunden in Lugolscher Lösung; 4) Entfärbung in Alkohol absol., bis sich keine Farbwolken mehr abscheiden; 5) Erneutes Abspülen in Wasser; 6) 5 Sekunden in 1-proz. Safraninlösung. — Immerhin müssen wir hier zwei Tatsachen hervorheben:

1) daß die alten Individuen im Degenerationszustand und im Zerfall sich nicht völlig nach Gram entfärben, sondern eine leichte, rot-violette Farbe behalten.

2) daß die Individuen von sehr jungen Kulturen (4—5-stündigen), obwohl sie sich in Alkohol entfärben, sich schlecht mit Safranin färben (blaßrot, cf. Fig. 1b und Fig. 2a) und nur dann, wenn wir viel und lange und sehr intensiv mit Safranin gefärbt haben (20—40 Sekunden), nehmen sie eine rote Farbe an.

In etwas älteren Kulturen (10—12-stündigen) findet dieses nicht mehr statt; die Entfärbung und die Kontrastfärbung geschieht rapide.

Kapselfärbung. Ich habe zu diesem Zweck die Klettsche Methode gebraucht, indem ich vielfach versuchte, die Ausstrichpräparate der Milz einer weißen Maus nach dieser Methode zu färben, jedoch ohne ein positives Resultat erhalten zu können.

Sporenfärbung. Ich habe nach Sporen in alten 8-tägigen Agarkulturen mit Hilfe der Müllerschen Methode gesucht, aber auch diesmal war das Ergebnis negativ.

Aus der Morphologie dieser Mikroorganismen können wir folgende wesentlichen Schlüsse ziehen:

1) Er kann von wechselnder Form und Größe sein, je nach dem Nährboden; im allgemeinen hat er auf den festen Nährböden (Agar, Gelatine, Blutserum, Kartoffeln) eine kleinere, plumpere, runde Form, die der Kokkenform nahesteht. Auf den flüssigen Nährböden (Bouillon, Milch, Peptonwasser) und in tierischen Geweben erscheint er in vermischten Formen, so daß wir in solchen Präparaten (Blut, Bouillonkultur, Milch) alle Modifikationen der Form beobachten können: von der selteneren und vereinzelten Semmelform bis zu der vorwiegend länglichen diplobacillären.

2) Mit zunehmendem Alter wird er bedeutend größer, ebenso in den letzten Generationen; außerdem verlängert sich seine Form auf der Agarkultur in den letzten Generationen ein wenig (Fig. 2d).

3) Da dieser Mikroorganismus bald Kokken-, bald die Bacillenform hat, möchte ich ihm den Namen „Kokkobacillus" geben, eine Bezeichnung, die übrigens schon von anderen Bakteriologen gebraucht worden ist, um morphologische Formen zu bezeichnen, welche nicht als Angehörige einer derjenigen Familien betrachtet werden konnten, in welche die bakteriologischen Handbücher die bekannten und beschriebenen Mikroben einteilen.

Kulturmerkmale.

Loefflersche Blutserumkultur. Nach 20 Stunden kommen auf der Oberfläche des Nährbodens dicke unregelmäßige Flecken zum Vorschein, die 2—3—4 mm im Durchmesser haben, tropfenartig erhaben, graugelblich und voneinander deutlich getrennt sind, welche nur an einzelnen Stellen der Abstrichlinie aufschießen. Diese Flecken sind feucht, fast flüssig und trübe, so daß sie eiterähnlich aussehen.

Wegen ihrer fast flüssigen Konsistenz haften sie nicht lange auf der schrägen Oberfläche des Nährbodens, sondern gleiten nach wenigen Stunden hinab und bleiben im Kondenswasser, welches deshalb getrübt ist und einen reichlichen gelblichen Bodensatz hat.

Das Blutserum wird nie verflüssigt, auch nicht nach vielen Tagen.

Ascitesagar. Wachstum nach 24 Stunden: dann sieht man längs der Abstrichlinie der Oese kleinste, punktförmige, opake, konfluierende Kolonieen von graugelblicher Farbe, die bald einen opaken, graugelblichen, feuchten, zarten, mit zackigem Rand versehenen Streifen bilden.

Das Wachstum bleibt auch nach 10 Tagen noch spärlich. Das Kondenswasser bleibt klar mit geringem, gelblichem Bodensatz.

Bemerkenswert ist, daß dieses schlechte Wachstum sich nach 20—30 Generationen verbessert. Die Entwickelung findet schon nach 12 Stunden statt, ist reichlicher und üppiger, aber erreicht nie die außerordentliche Ueppigkeit der gewöhnlichen Agarkulturen.

Gewöhnliche Agarplatte. Sie ist der beste Nährboden für die Lebensbedingungen unseres Mikroorganismus. 5 Stunden nach Aussaat der Kultur ist eine sehr deutliche Entwickelung sichtbar. Die Kolonieen bilden ein dünnes, feuchtes, glänzendes, fast durchsichtiges Häutchen, oder sie bleiben vereinzelt in Form feinster Pünktchen mit bloßem Auge kaum sichtbar.

Bei 50-facher Vergrößerung erscheinen die einzelnen jungen Kolonieen rund, glattrandig und gut begrenzt von einer gleichmäßigen homogenen Substanz, sehr fein granuliert, kaum im Mikroskop sichtbar. Schon nach 5 Stunden kann man im auffallenden Licht eine deutliche Fluoreszenz der Kolonieen erkennen. Nach 24 Stunden steigert sich das Wachstum erheblich. Längs der Abstrichlinie der Oese wird das Häutchen dicker, feuchter und fluoreszierender, ist von breiartiger Konsistenz und von gelblicher Farbe.

Nach 2—3 Tagen erreicht die Entwickelung den Höhepunkt: die größeren Kolonieen haben 3,5 mm im Durchmesser mit einem deutlichen, opaken Kern im Zentrum. Nach 4—5 Tagen ist der Rand der Kolonieen nicht mehr glatt, sondern oft gezackt oder gewellt und manchmal kann man radiäre Inzisionen bemerken, die vom Rande der Kolonieen anfangen und ins Innere nach dem Zentrum hin eindringen, so daß die Kolonie das Aussehen eines Weinblattes hat.

Abstrich im Peptonagar. Das Wachstum hat dieselben Merkmale wie das auf der Agarplatte oben beschriebene. Das Kondenswasser ist gleichmäßig getrübt, mit einem erheblichen, gelblichen Bodensatz. Auf seiner Oberfläche ist kein Häutchen zu sehen.

Gelatinestich. Nach 24 Stunden tritt deutliches Wachstum ein, dem Aussehen nach einen feinsten, opalglänzenden, fast durchsichtigen Schleier bildend, welcher die erste Strecke des Stichkanals bedeckt. Nach 3 Tagen ist der ganze Stichkanal mit opaken Kolonieen von butterartiger Konsistenz bedeckt.

Auf der Oberfläche der Gelatine, um die Einstichöffnung herum, haben die wachsenden Kolonieen das Aussehen einer unregelmäßigen, leicht erhabenen Scheibe von weißlich-opaker Farbe und 2 mm Durchmesser. Der Rand der Scheibe ist unregelmäßig rund, feingezackt und zeigt radiäre Inzisionen von der Peripherie nach dem Zentrum zu, welche der Scheibe die Form eines Weinblattes verleihen. Dieses Wachstum schreitet nicht weiter fort. Gelatine wird nicht verflüssigt, auch nicht nach 2 Monaten.

Zuckeragarstich. Spärliche Entwickelung nach 4 Stunden längs dem Stichkanal, nur im oberen Teil; der Stichkanal erscheint mit einem feinsten, fast durchsichtigen, weißlichen Schleier bedeckt, welcher aus mikroskopisch kleinsten Kolonieen besteht. Im Gegensatz dazu ist die Entwickelung um die Einstichöffnung herum ganz gut und bildet eine flache, dicke, weißliche Scheibe von feuchter und breiartiger Konsistenz mit welligem Rand. Ihre Oberfläche vergrößert sich innerhalb einer Woche, so daß sie bis an die Wände des Röhrchens gelangt.

Bouillonkultur. Nach 24 Stunden bleibt die Bouillon klar und weder auf der Oberfläche noch an den Wänden des Röhrchens ist eine Spur von einem Häutchen zu sehen, auch nicht, wenn wir das Röhrchen längere Zeit absolut ruhig stehen ließen. Am Boden des Röhrchens ist ein mattgrauer Belag sichtbar und beim Schütteln des Röhrchens erhebt sich dieser Bodensatz in schleimigen Spiralen, welche sich in der Bouillon homogen verteilen und diese gleichmäßig trüben.

Nach 2—3 Tagen ist in der Bouillonkultur eine erhebliche Menge von Bodensatz vorhanden.

Nach 24 Stunden gibt die Bouillon deutlich alkalische Reaktion, die nach 2 bis 3 Tagen noch intensiver wird.

Peptonwasser. Nach 24 Stunden bemerkt man einen kümmerlichen, mattgrauen Bodensatz im Röhrchen; wenn wir es schütteln, so verteilt sich dieser in kleinste Flocken in der Flüssigkeit. Nach 2—4 Tagen bleibt das Wachstum stehen und ist weniger reichlich als in der Bouillon.

Milch. Mäßige Entwickelung nach 24 Stunden. Die Milch wird nie koaguliert, auch nicht nach vielen Wochen. Leichte Säurebildung nach 24 Stunden, welche nicht stärker wird.

Auf Kartoffel gutes Wachstum. Nach 24 Stunden bildet sich auf der Oberfläche ein grauer, dicker, breiartiger Ueberzug, welcher in 2 Tagen den Höhepunkt der Entwickelung erreicht, die dann stehen bleibt. In den folgenden Tagen nimmt diese Kultur einen gelbbraunen Farbenton an.

Glyzerinagar (3-proz.). Spärliches Wachstum mit denselben Merkmalen wie auf gewöhnlichem Agar.

Blutserum + Glyzerinagar (3-proz.). Sehr kümmerliches, fast unsichtbares Wachstum, spärliche gelbliche Flecken, fast flüssig, mit denselben Merkmalen wie auf Loefflerschem Blutserum.

Rohrzuckeragar (3-proz.). Dasselbe Wachstum wie auf gewöhnlichem Agar.

Rohrzuckerserum (3-proz.). Dieselbe Entwickelung wie auf gewöhnlichem Agar.

Wenn wir also die charakteristischen Merkmale der 4 letzten Nährböden zusammenfassen, so können wir daraus schließen, daß auf Zusatz von Traubenzucker zu den gewöhnlichen Nährböden das Wachstum unseres Mikroorganismus sich nicht ändert, während der Glyzerinzusatz seine Entwickelung ein wenig hemmt.

Neutrale Lackmusmolke. Das Wachstum beginnt nach 24 Stunden, indem der Boden des Röhrchens leicht getrübt wird; das Verhalten ist demjenigen auf der Bouillonkultur gleich. Aber dieser Nährboden bleibt konstant trübe. Die Lackmusfarbe bleibt unverändert auch nach vielen Tagen. Keine Gasbildung.

Anaërobe Kulturen. Die anaëroben Kulturen haben wir nach der Buchnerschen Methode angelegt. Nachdem wir einige Röhrchen mit Agar beschickt hatten, sperrten wir sie hermetisch in ein zylindrisches Gefäß, auf dessen Boden wir Pyrogallussäure + Wasser ausschütteten und vor dem Schließen des Gefäßes Kalilauge hinzufügten. Dann bildete sich eine Lösung von pyrogallussaurem Kali, welches den in der Atmosphäre des Gefäßes vorhandenen Sauerstoff absorbierte.

Nach 12 Stunden entwickelten sich deutlich anaërobe Kulturen, die innerhalb 2 Tagen dasselbe Wachstum wie die aëroben Agarkulturen zeigten.

Die Indolreaktion, welche wir vielfach in 8-tägigen Bouillonkulturen prüften, hatte immer ein negatives Ergebnis.

Lebensdauer. Dieser Mikroorganismus hat eine sehr lange Lebensfähigkeit. Wir haben Uebertragungen von Agarkulturen, die 40 Tage alt waren, gemacht und erhielten immer ein vorzügliches Wachstum. Es ist auch nicht ausgeschlossen, daß man ihn lebend auch auf noch älteren Kulturen findet.

Das Temperaturoptimum liegt bei 37°. Auch bei Zimmertemperatur (ca. 15°) wächst er noch gut, jedoch nicht so üppig wie im Brutschrank bei 37°.

Eine Agarkultur zeigt bei 0° anfangs ein sehr spärliches Wachstum. Nach 24 Stunden aber sind die Kolonieen immerhin deutlich sichtbar.

Eine 24-stündige Agarkultur war nach einem 8-tägigen Aufenthalt bei 0° noch lebensfähig, weil sie bei Uebertragung in ein anderes Agarröhrchen noch gutes Wachstum erzeugte.

Gegenüber hohen Temperaturen verhalten sich die Kulturen folgendermaßen:

50° werden gut während 1 Stunde vertragen,
55° töten die Kultur innerhalb 1 Stunde 10 Minuten,
60° töten die Kultur innerhalb 1 Stunde,
80° werden nur 5 Minuten vertragen.

Zuckernährböden (Verfahren nach Lingelsheim und His).

Zunächst habe ich 8 verschiedene, 10-proz. Lösungen von Dextrose, Lävulose, Maltose, Rohrzucker, Milchzucker, Mannit, Inulin und Galaktose in der Kubel-Tiemannschen Lackmuslösung hergestellt. Die letztere muß vorher sterilisiert werden. Die verschiedenen Lösungen werden dann durch ein Wasserbad bei 100° (2 Minuten) oder durch ein Dampfbad (10 Minuten) sterilisiert. Ein zu langes und wiederholtes Erhitzen zerstört einige Zuckerarten. Ferner wird zu jeder Lösung 5-proz. Normalsodalösung zugesetzt (28,8 g in 100 ccm Wasser) und darauf werden sie zum Agar hinzugefügt; außerdem werden 13,5 ccm Ascitesagar mit 1,5 ccm Zuckerlackmuslösung vermischt und in Petri-Schalen ausgegossen. Nach Prüfung der Sterilität, indem ich

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

die Petri-Schalen für 24 Stunden im Brutschrank stehen ließ, machten wir auf ihrer Oberfläche mit einigen Oesen von frischer Agarkultur eine Aussaat durch Ausstreichen.

Das Ergebnis der Vergärung dieser Zuckernährböden war sehr charakteristisch. Auf allen 8 Zuckerarten war das Wachstum der Kolonieen reichlich, außer auf Milchzucker und Inulin, auf welchen die Entwickelung nur mäßig war.

Alle 8 Zuckerarten vergärten verschieden schnell: 4 vergärten intensiv, 2 mäßig und eine schwach. Bei allen wurde der Höhepunkt der Vergärung nach 5 Tagen erreicht, dann aber ging die Vergärung zurück, bis sie gänzlich verschwand, so daß nach 15 Tagen alle 8 Platten keine Spur von Vergärung (rote Farbe) zeigten und wieder die ursprüngliche blaue Farbe hatten.

Die Tabelle I zeigt das Verhalten des Vergärungsprozesses der einzelnen Zuckerarten.

Bemerkenswert ist, daß der Rohrzucker und das Mannit sich etwas verschieden verhielten: der Rohrzucker vergärte sehr schwach in der Bouillon am dritten Tage; diese schwache Säurebildung bestand während drei Tagen und verschwand am sechsten gänzlich.

Der Mannit vergärte erst nach 5 Tagen. Sein Maximum erreichte er am sechsten Tage. Am siebenten Tage ging die Säure zurück und am achten war sie völlig verschwunden.

Tabelle I.

	Dextrose	Lävulose	Galaktose	Maltose	Mannit	Rohrzucker	Milchzucker	Inulin
Nach 24 Stunden	+	+	0	0	0	0	0	0
2. Tag	++	++	0	0	0	0	+	+
3. „	++	+++	0	0	0	+	+	+
4. „	+++	+++	0	0	0	+	++	++
5. „	+++	+++	+	+	+	+	+++	+++
6. „	+++	+++	++	++	++	0	+++	+++
7. „	++	++	+	+	+	0	+	++
8. „	++	++	+	+	0	0	+	++
9. „	+	+	0	0	0	0	0	+
10. „	+	+	0	0	0	0	0	+
11. „	+	+	0	0	0	0	0	+
12. „	+	+	0	0	0	0	0	+
13. „	+	+	0	0	0	0	0	+
14. „	+	+	0	0	0	0	0	+
15. „	0	0	0	0	0	0	0	0

0 keine Vergärung, + schwache, ++ mäßige, +++ starke Säurebildung.

Aus den oben erörterten Kulturmerkmalen kann man folgende charakteristischen Eigenschaften des Kokkobacillus schließen:

1) Im allgemeinen gutes Wachstum auf allen Nährböden.
2) Große Resistenz gegen Kälte und Hitze.
3) Eine relativ lange Lebensdauer.
4) Fakultativ anaërob.
5) Milch wird nicht koaguliert.
6) Gelatine wird nicht verflüssigt.
7) Vergärt mehr oder weniger intensiv alle 8 Zuckerarten (Verfahren nach Lingelsheim und His).

Die Säurebildung geht zurück, wenn sie ihren Höhepunkt erreicht hat und verschwindet schließlich ganz.

Tierpathogenität.

Ich habe die Pathogenität des Kokkobacillus auf verschiedenen Versuchstieren und allen Teilen des Kaninchenauges geprüft. Schließlich habe ich auch meine Bindehaut wiederholt mit Reinkulturen infiziert.

Protokolle.

Ich kam dabei zu folgenden Resultaten:

Erstes Experiment: einem Meerschweinchen von 50 g Gewicht wird 1 ccm [illegible]-stündiger Bouillonkultur (3. oder 4. Generation) subkutan injiziert. In den folgen-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

den Tagen ist kein Krankheitszeichen zu sehen, und das Tier ist noch nach 2 Monaten am Leben.

Eine andere intraperitoneale Injektion von 0,5 ccm einer 24-stündigen Agarkulturemulsion (40. Generation) wird in ein Meerschweinchen gebracht. Das Tier blieb am Leben, ohne Krankheitssymptome zu zeigen.

Das Experiment wird an einem anderen Tier mit einer Dosis von 1 ccm derselben Kultur wiederholt, das Tier geht in 18 Stunden zugrunde. Die Autopsie zeigt reichliches, leicht getrübtes, peritoneales Exsudat mit wenigen cellulären Elementen; zahlreiche fibrinöse Auflagerungen auf der Oberfläche der Leber. Die anderen Abdominal- und Thoraxorgane sind normal. Eine Agarkultur vom Herzblut bleibt völlig steril. Die mikroskopische Untersuchung der Leber, Milz, des peritonealen Exsudates, der Nieren und der fibrinösen Auflagerungen auf der Oberfläche der Leber ergibt einen völlig negativen Bakterienbefund.

Zweites Experiment: intraperitoneale Injektion in weiße Mäuse von 0,5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur. Nach 15 Stunden hatten diese Tiere ihre Lebhaftigkeit und Appetit verloren, wurden schläfrig, blieben regungslos, mit halbgeschlossenen Augen. Das Fell wurde borstig und verwirrt. Durchfälle traten nicht auf. Nach 2 Tagen besserte sich ihr Befinden und in 3–4 Tagen wurden sie ganz gesund und so lebhaft wie vorher.

Intraperitoneale Injektion von 1 ccm 24-stündiger Bouillonkultur in weiße Mäuse: die Tiere gehen in 24 Stunden zugrunde.

Intraperitoneale Injektion in dieselben Tiere von 0,5 ccm einer 24-stündigen Agarkulturemulsion, Tod nach 12 Stunden.

Intraperitoneale Injektion in eine weiße Maus von 0,5 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur angelegt, mit dem Kokkobacillus, wenn wir ihn aus dem Blut eines vorher damit geimpften Tieres gezüchtet hatten, ergab, daß nach 15 Stunden dieselben Krankheitsmerkmale zum Vorschein kommen, die wir in den mit derselben Dosis geimpften weißen Mäusen beobachteten, aber ohne Tierpassage; das Tier bleibt am Leben und wird in 3 Tagen gesund.

Dieses Experiment beweist, daß die Virulenz des Kokkobacillus in Bouillon durch Tierpassage nicht gesteigert wird.

Intraperitoneale Injektion in weiße Mäuse von 0,5 ccm einer 5-tägigen Agarkulturemulsion, Tod des Tieres in 12 Stunden.

Dieses Experiment ist ein Beweis dafür, daß die 5-tägigen Kulturen dieselbe Pathogenität wie die 24-stündigen haben.

Die Autopsie der weißen Mäuse, die infolge der oben beschriebenen Impfungen zugrunde gegangen sind, ergibt kein peritoneales Exsudat und keine Veränderungen im Peritoneum, die Milz ist vergrößert und stark hyperämisch, auch die Nieren sind größer und hyperämisch; die anderen Abdominal- und Thoraxorgane sind normal. Eine Kultur vom Herzblut zeigt schon nach 5 Stunden eine starke Entwickelung von reinen Kolonieen des Kokkobacillus.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des Herzblutes der verstorbenen Mäuse erscheinen die Kokkobacillen viel größer als in dem ursprünglichen Conjunctivalsekret unserer Kranken; außerdem überwiegt die längliche, bacilläre Doppelform (Fig. 3a); man bemerkt noch eine große Anzahl von Individuen im Degenerationszustand. Diese Tatsache konnte ich auch in einem frischen Herzblut- und Milzpräparat konstatieren, das ich von einer von mir selbst getöteten Maus erhielt, die sich infolge der intraperitonealen Injektion in der Agonie befand. Die mikroskopische Untersuchung der Milz und der Nieren ergab denselben positiven Befund. In diesen Präparaten erscheint der Kokkobacillus vorwiegend extracellulär (Fig. 3b). (Für die genauere Beschreibung dieser Präparate cf. die in der Morphologie gegebene Beschreibung.)

Die Leber ergab mikroskopisch einen negativen Befund.

Drittes Experiment: Injektion von 1 ccm einer 24-stündigen Agarkulturemulsion in die Ohrvene eines Kaninchens. Nach 12 Stunden stirbt das Tier. Bei der Autopsie, 1 Stunde nach dem Tode, ergab sich kein peritoneales Exsudat. Die Abdominal- und Thoraxorgane sind äußerlich normal; die Herzblutkultur bleibt steril.

Viertes Experiment: Zuerst wurde eine 24-stündige Agarkulturemulsion gemacht und alle sich darin befindenden Mikroorganismen abgetötet, indem das ganze Kulturröhrchen für 1 Stunde in ein Wasserbad bei 100° gestellt wurde, nachdem es vorher an der Flamme zugeschmolzen war. Dann wurde 1 ccm von dieser abgetöteten Kultur in die Ohrvene eines Kaninchens eingeimpft. Das Tier starb in 12 Stunden.

Aus der Autopsie ergab sich, daß alle Abdominal- und Thoraxorgane normal geblieben waren. Kein peritoneales Exsudat. Eine Herzblutagarkultur blieb völlig steril. Die mikroskopischen Untersuchungen des Herzblutes, der Milz, Nieren und Leber blieben vollständig negativ für alle Mikroorganismen.

Fünftes Experiment: 100 ccm von 4-tägiger Bouillonkultur werden durch das Chamberlandfilter filtriert. Von dem Filtrat impften wir weißen Mäusen intraperitoneal zuerst 1, dann 2 ccm ein. Diese Tiere zeigten keinerlei Krankheitszeichen.

Sechstes Experiment: wiederholte Infektion der normalen Bindehaut des Kaninchens mit starken Dosen von Agarkulturen (3—4 Oesen), ohne daß jemals irgendeine entzündliche Reaktion auftrat.

Siebentes Experiment: Injektion von 0,5 ccm einer 24-stündigen Agarkultur unter die Conjunctiva bulbi des Kaninchens, ohne irgendwelche Reaktion der Conjunctiva in den folgenden Tagen. Darauf wurde das Experiment mit 0,5 ccm einer 24-stündigen Agarkulturemulsion wiederholt. Nach 12 Stunden war die Conjunctiva stark entzündet und hyperämisch, mit reichlicher weißgelblicher, nicht sehr dicker Sekretion.

Bei der mikroskopischen Sekretuntersuchung ergab sich ein negativer Befund für alle Mikroorganismen. Eine von dem Sekret ausgelegte Agarkultur blieb absolut steril. Nach 2 Tagen nahm die Bindehautentzündung ab. 4 Tage darauf bildete sich unter der Bindehaut an der Injektionsstelle ein kleiner Absceß, wie eine kleine Bohne groß, von leicht gelblicher Farbe. Der Absceß wird punktiert und es entleert sich eine dicke, weiche, schleimige, breiartige Masse. Die von diesem Material angelegten Kulturen zeigen nach 2 Tagen eine sehr spärliche Entwickelung von wenigen Kokkobacilluskolonieen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des Absceßinhalts findet man zahlreiche Leukocyten, eine große Fibrinmenge, sowie eine kleine Anzahl von Kokkobacillen, vorwiegend extracellulär. Die Degenerationsformen sind sehr reichlich. Außer den Kokkobacillen ist kein anderer Keim in den Präparaten vorhanden.

Bemerkenswert ist, daß der Absceß von selbst innerhalb einer Woche resorbiert wird, auch wenn keine Punktion vorgenommen wird.

Achtes Experiment: Das erste Mal habe ich meine eigene normale Bindehaut infiziert, indem ich in den Conjunctivalsack 1 Oese von 24-stündiger Bouillonkultur hineinbrachte; als ich nach 4 Tagen keine Reaktion der Bindehaut erhielt, wiederholte ich das Experiment mit 2 Oesen von 24-stündiger Agarkultur; aber auch diesmal hatte das Experiment keinen Erfolg, und die Bindehaut blieb normal.

Neuntes Experiment: Injektion einiger Tropfen einer 24-stündigen Bouillonkultur ins Hornhautgewebe eines Kaninchens.

Nach 24 Stunden erscheint ein mattgraues Infiltrat im Parenchym der Hornhaut, welches innerhalb einer Woche resorbiert wird und verschwindet.

Zehntes Experiment: Einimpfung von $^{1}/_{10}$ ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur in die Vorderkammer eines Kaninchens.

Nach 12 Stunden tritt eine heftige Iritis mit Hypopyon ein, mit Trübung und Oedem der Hornhaut, und mit einer sich anschließenden heftigen Bindehautentzündung.

48 Stunden nach der Einimpfung Enukleation des Auges. Nachher wird mit einer Pravazspritze ein wenig Exsudat aus der Vorderkammer entnommen. Das Exsudat erscheint trübe, gelblich, zellreich; mikroskopisch findet man zahlreiche Formen des Kokkobacillus, die meistens im Degenerationszustand sind (cf. Abschnitt „Morphologie“). Eine Agarkultur von diesem Exsudat gibt nach 24 Stunden ein reichliches Wachstum von reinen Kolonieen des Kokkobacillus mit denselben Merkmalen, wie auf der Agarkultur.

Das enukleierte Auge wird in Zenkerscher Flüssigkeit fixiert, in Celloidin eingebettet und geschnitten. Die mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitte zeigen das Bild einer deutlichen Panophthalmie. In manchen Schnitten, wegen der Bakterien nach Nicole gefärbt (Axenfeld, „Bakteriologie in der Augenheilkunde“, p. 5), finden sich zahlreiche Formen des Kokkobacillus im Vorderkammerexsudat und auch in anderen Teilen des kranken Auges. Der größte Teil dieser Formen befindet sich im Zerfall.

Elftes Experiment. Einimpfung in den Glaskörper eines Kaninchens von $^{1}/_{4}$ ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur.

Nach 24 Stunden tritt eine heftige Iritis mit Hypopyon ein, und durch die Pupillenöffnung erscheint der weißliche Reflex des Glaskörpers stark getrübt; dann schließt sich auch noch eine heftige Bindehautentzündung an.

Nach 2 Tagen wird das Auge enukleiert und man entnimmt $^{1}/_{4}$ ccm Exsudat aus dem Glaskörper. Das Exsudat ist trübe, zellreich, mit Blut vermischt. Bei der mikroskopischen Untersuchung ergeben sich zahlreiche gramnegative Kokkobacillen (cf. „Morphologie“), ohne daß sich auch mit größter Aufmerksamkeit die Anwesenheit anderer Keime nachweisen ließe. Eine Agarkultur von diesem Exsudat ergibt nach 10 Stunden ein üppiges Wachstum von reinen Kolonieen des Kokkobacillus.

Das enukleierte Auge wird in Zenkerscher Flüssigkeit fixiert, in Celloidin eingebettet und geschnitten.

Die mit Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnitte zeigen Panophthalmie. Die der Bakterien halber nach Nicolle gefärbten Schnitte zeigen zahlreiche Kokkobacillen im -körper, vorwiegend intracellulär; viele Individuen sind degeneriert.

Aus den oben beschriebenen Experimenten können wir folgende lüsse ziehen:

Die zwei ersten Experimente sprechen dafür, daß der Kokkobacillus eine geringe Tierpathogenität zeigt, denn die Versuchstiere gingen nur dann zugrunde, wenn die Impfdosen sehr groß waren. Die mikroskopische Untersuchung der Abdominalorgane der Mäuse ergab eine große Anzahl von Degenerationsformen. Noch besser sieht man dies aus den mikroskopischen negativen Ergebnissen der Organe des Meerschweinchens und des Kaninchens (2. und 3. Experiment).

Bei den letzteren ging der Kokkobacillus so schnell zugrunde, auch wenn er in großen Dosen injiziert wurde, daß keine Spur von ihm im Blute und in den Abdominalorganen dieser Tiere zu finden war.

Aus dem 3., 4. und 5. Experiment ergibt sich folgendes:

1) Der Kokkobacillus sezerniert keine Ektotoxine, denn die Einimpfung von filtrierter Bouillonkultur in weiße Mäuse tötete diese nicht, obschon ich dieselben Dosen gebraucht hatte, die in unfiltrierten Kulturen tödlich waren.

2) Der so rasch eingetretene Tod des Meerschweinchens und des Kaninchens, der aber einen mikroskopisch negativen Befund ergab, hatte folgendes zur Ursache: wenn wir den Kokkobacillus in den Organismus dieser Tiere einbringen (Blut, Peritoneum), so reagiert der Organismus bald zerstörend auf ihn, aber das Tier stirbt an der Intoxikation durch die Endotoxine des Kokkobacillus, welche durch seine Zerstörung frei werden. Die Anwesenheit und die giftige Wirkung dieser Toxine erhellen durch das 4. Experiment, bei welchem wir den Tod eines Kaninchens mit einer Injektion von 1 ccm einer Agarkulturemulsion in die Ohrvene erzielten; die Kultur wurde vorher abgetötet, indem wir sie während einer Stunde im Brutschrank bei 60° stehen ließen.

Das 6. und 8. Experiment beweisen, daß sowohl die normale menschliche Bindehaut, wie diejenige des Kaninchens, keine Reaktion gegenüber der Infektion mit Reinkulturen des Kokkobacillus zeigen.

Das 7. Experiment beweist, daß eine Injektion einer großen Dosis von Agarkulturemulsion in die Conjunctiva bulbi des Kaninchens eine Conjunctivitis hervorruft, welche rasch ausheilt; später bildet sich ein subconjunctivaler Abszeß, welcher keine starke Reaktion in seiner Umgebung hervorruft, und in dessen Inhalt sich eine große Anzahl von degenerierenden Mikroorganismen befindet. Daraus können wir sehen, daß der Kokkobacillus sehr wenig pyogen ist.

Das 10. und 11. Experiment beweisen, daß kleine Dosen von Bouillonkultur, in den Glaskörper oder in die Vorderkammer eingeimpft, eine Panophthalmie des Auges nach 24 Stunden hervorrufen; aber der Kokkobacillus wächst spärlich in beiden Gebilden, hat eine kurze Lebensdauer und degeneriert rasch.

Differentialdiagnose von den drei wichtigsten gramnegativen Doppelkokken der Bindehaut: Gonococcus, Meningococcus und Micrococcus catarrhalis — und von einigen anderen Arten gramnegativer Mikroorganismen, welche irgendeine Beziehung mit dem Kokkobacillus haben könnten.

Differentialdiagnose vom Gonococcus.

Es genügt schon, ein Ausstrichpräparat vom Conjunctivalsekret unserer Kranken oder von einer Kultur des Kokkobacillus zu betrachten, um zu sehen, daß keine Verwechselung mit dem Gonococcus möglich ist.

Im Conjunctivalsekret haben die Gonokokken immer die Semmelform und liegen mit Vorliebe in intracellulären Häufchen; der Kokko-

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

bacillus ist selten intracellulär, liegt immer in vereinzelten Diploformen und niemals in Häufchen; die Semmelgestalt und die runde Form finden sich fast nie: im Gegenteil ist die längliche Form mit den abgerundeten oder lanzettförmigen Enden die überwiegende (Fig. 1a). Noch schwieriger ist die Verwechselung mit dem Gonococcus auf der Kultur: der Kokkobacillus liefert nie Tetraden, während das beim Gonococcus sehr oft geschieht. Dagegen hat der Gonococcus nie die deutlich bacilläre Form und ist nie zu Ketten oder langen Fäden vereinigt, welche der Kokkobacillus auf der Bouillonkultur bildet (Fig. 2b, c).

Auch die kulturellen Unterschiede sind wesentlich und charakteristisch; der Gonococcus wächst nicht in dieser Weise auf allen Nährböden bei wechselnder Temperatur. Der Kokkobacillus wächst dagegen sogar auf Ascitesagar und auf Blutserum nicht so gut.

Der Gonococcus stirbt bei Zimmertemperatur innerhalb 48 Stunden ab (Steinschneider, Schäffer); nach Neisser schon in 24 bis 36 Stunden; der Kokkobacillus bleibt 2 Monate hindurch außerhalb des Brutschrankes lebensfähig und vielleicht auch noch länger. Ueber eine Woche bei 0°.

Diese kurz zusammengefaßten, hauptsächlichen Differentialmerkmale sind ein genügender Beweis dafür, daß weder morphologisch noch kulturell eine Verwechselung mit dem Gonococcus möglich ist.

Differentialdiagnose von dem Meningococcus.

Die wesentlichen morphologischen Unterschiede sind dieselben wie beim Gonococcus, weil der Meningococcus morphologisch dem Gonococcus sehr ähnlich ist.

Auch die kulturellen Unterschiede sind so groß, daß die Verwechselung des Meningococcus mit dem Kokkobacillus unmöglich ist.

Die Meningokokkenkolonieen sind durchsichtig, hellgrau, von zäher, breiartiger Konsistenz; im Kondenswasser bildet sich beim ruhigen Stehen auf der Oberfläche ein Häutchen, welches auf meinen Kulturen fehlt.

Auf Kartoffel kein Wachstum und auf Gelatine kein Gedeihen der Meningokokken; im Brutschrank bleibt er während 6 Wochen lebend, aber außerhalb des Brutschrankes stirbt er schon nach einigen Tagen ab.

Das verschiedene Verhalten der beiden Keime auf den Zuckernährböden ist ein gutes Unterscheidungsmerkmal. Genaueres darüber beim Micr. catarrhalis.

Differentialdiagnose von dem Micrococcus catarrhalis.

Im Jahre 1896 haben Frosch und Kolle zum erstenmal einen gramnegativen Diplococcus beschrieben, der dem Gonococcus ähnlich war, und welchen R. Pfeiffer aus dem Sputum eines Bronchitikers gezüchtet hatte; im Fieberstadium lag er in intracellulären Häufchen, wie die Gonokokken. Später haben Ghon, Pfeiffer und Sederl (1902) und v. Lingelsheim (1905) diesen Keim auf Grund von reichlicherem Material und genaueren Untersuchungen beschrieben. Die zwei letzten Autoren haben ihn 81mal in gesunden und kranken Respirationswegen nachgewiesen. Petruschky züchtete ihn aus der Lunge eines an Typhus gestorbenen Kindes. Krukenberg isolierte 5 nicht pathogene Stämme von einem Diplococcus, der dem Micr. catarrh. der menschlichen normalen Bindehaut sehr ähnlich war (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 31. p. 475). Neisser fand den Micrococcus catarrhalis (Mon. Kolle-Wassermann) konstant in 16 Fällen von Keuchhusten, in einem Maserntall, in einem Scharlachfall und in 2 Diphtheriefällen.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Schließlich beschrieb **Brons** in der Freiburger Universitätsklinik genau die Merkmale dieses Mikroorganismus. Er hatte 6 Stämme vom Micrococcus catarrhalis von einer leicht entzündeten menschlichen Bindehaut gezüchtet und auch von einer Conjunctivitis, die im Verlauf einer epidemischen Cerebrospinalmeningitis aufgetreten war.

Die Ergebnisse sind völlig mit denen von **Ghon** und **Pfeiffer** übereinstimmend, der Micrococcus catarrhalis ist, wie der Kokkobacillus, ein streng gramnegativer Keim; er hat stets die Semmelgestalt, in den Sekret- wie in den Kulturpräparaten. Die Semmelform ist ein wenig plumper und dicker, als die des Gonococcus, sehr häufig zu Tetraden vereinigt, Kettenlagerung fehlt stets. Der Micrococcus catarrhalis liegt oft intracellulär, zuweilen in Häufchen, so daß wir ein dem Gonococcus ähnliches Bild vor uns haben. Dagegen sind die charakteristischen Merkmale des Kokkobacillus ganz anders: gemischte Formen in Geweben und in Kulturen, und zwar vorwiegend die längliche; Tetradenbildung fehlt immer, sehr oft Ketten- oder Fadenbildung; selten intracellulär und nie in Häufchen, aber immer in vereinzelten Diploformen oder zu Gruppen von 2—3 Individuen vereinigt. Auch die kulturellen Unterschiede sind deutlich.

Die Kolonieen des Micrococcus catarrhalis sind auf den Agarkulturen von grauweißer Farbe, mit zackigem Rande, flach erhaben und erreichen die Größe von 3—4 mm Durchmesser. Sie sind grob granuliert und von bröckeliger, spröder Konsistenz, so daß beim Abstrich einer Oese von einer solchen Kolonie diese sich leicht verschiebt und in Stücke zerfällt. Dagegen sind meine Kolonieen gelblichgrau, glattrandig, kuppelartig erhaben, von zarter und feuchter Konsistenz, feingranuliert; der Unterschied ist noch charakteristischer auf dem **Löffler**schen Blutserum, auf welchem der Kokkobacilllus sehr spärlich wächst und das Aussehen großer, halbverflüssigter, gelblicher, getrübter Flecken hat. Wegen ihrer Feuchtigkeit bleiben die Kolonieen nicht an der Oberfläche des Nährbodens haften, sondern gleiten ins Kondenswasser hinab, mit dem sie sich vermischen.

In Bouillon wachsen alle beide gut, aber der Micrococcus catarrhalis bildet oft auf der Oberfläche ein Häutchen, was beim Kokkobacillus nie geschieht, auch wenn wir, nach **Brons**, die Bouillonkultur für längere Zeit ruhig stehen ließen. Der Micrococcus catarrhalis bildet in der Bouillonkultur einen körnigen Bodensatz, welcher beim Schütteln die Bouillon nicht homogen trübt, sondern sich in kleine, kompakte Körnchen verteilt. Dagegen bildet der Kokkobacillus einen schleimigen Bodensatz, welcher sich beim Schütteln spiralförmig aufwirbeln läßt und die Bouillon homogen trübt.

Der Micrococcus catarrhalis beginnt auf Gelatine erst nach 5—6 Tagen spärlich zu wachsen, der Kokkobacillus aber gedeiht schon nach 24 Stunden gut auf diesem Nährboden.

Auf Kartoffel wächst der Micrococcus catarrhalis sehr spärlich in Form eines kaum sichtbaren dünnen Belages. Der Kokkobacillus hat auf diesem Nährboden das Aussehen eines dicken, feuchten Breies, der nach einigen Tagen braun wird.

Milch und Bouillon geben beim Micrococcus catarrhalis eine alkalische Reaktion; der Kokkobacillus dagegen zeigt alkalische Reaktion in der Bouillon und leicht sauere in der Milch.

Alle beide sind fakultativ anaërob. Beide koagulieren Milch nicht und verflüssigen auch Gelatine nicht.

Der Micrococcus catarrhalis zeigt (nach einigen Tagen in neutraler Lackmusmolke) eine deutlich blaue Farbe und alkalische Reaktion, der Kokkobacillus dagegen verändert die Farbe dieses Nährbodens nicht.

Auch das Verhalten des Kokkobacillus auf den verschiedenen Zuckernährböden (Verfahren nach Lingelsheim und His) zeigte ein völlig anderes als das des Gonococcus, Meningococcus, Micrococcus catarrhalis.

Zum Vergleich mit den Resultaten von Brons, welche er mit einigen Gonokokken-, Meningokokkenstämmen und mit dem Micrococcus catarrhalis erzielte, führe ich die von mir mit dem Kokkobacillus erzielten Ergebnisse auf folgender Tabelle an:

Tabelle II.

Stamm	Dextrose	Lävulose	Galaktose	Maltose	Mannit	Rohrzucker	Milchzucker	Inulin
Meningococcus A	+'	0	0	+	0	0	0	0
Meningococcus B	+'	0	0	+	0	0	0	0
Meningococcus C	+'	0	0	+	0	0	0	0
Gonococccus A	+	0	0	0	0	0	0	0
Gonocococcus B	+	0	0	0	0	0	0	0
6 Stämme von Catarrh.	0	0	0	0	0	0	0	0
Kokkobacillus	++	++	+	+	+	+'	++	++

+' schwach, + mäßig, ++ stark.

Diese Tabelle zeigt deutlich das verschiedene Verhalten aller oben angeführten Stämme auf den 8 Zuckernährböden; man kann daraus folgendes schließen:

Die 3 Meningococcus-Arten vergären nur Dextrose und Maltose.

Die 2 Gonococcus-Arten vergärten nur Dextrose, die 6 Catarrhalis-Arten von Brons keinen von den 8 Zuckernährböden.

Der Kokkobacillus vergärt mehr oder weniger intensiv alle 8 Zuckerarten. Diese wiederholt geprüften, konstant gebliebenen Resultate sind ein gutes Unterscheidungsmerkmal für die Differentialdiagnose des Kokkobacillus von anderen gramnegativen Diplokokken.

Beim Vergleich der Pathogenität des Micr. catarrh. mit der des Kokkobacillus zeigt sich die intraperitoneale Injektion einer Kultur der Bronsschen Micr. catarrhalis-Arten ins Meerschweinchen ohne Erfolg; der Kokkobacillus dagegen führte den Tod eines mit 1 ccm einer 24-stündigen Agarkulturemulsion intraperitoneal geimpften Meerschweinchens in 18 Stunden herbei.

Die weißen Mäuse, welche mit großen Dosen einer Kultur des Micr. catarrhalis geimpft waren, starben mit Durchfall, und bei der Autopsie ergab sich ein peritoneales Exsudat mit massenhaften Diplokokken; aber man fand sie niemals im Herzblut, weder mikroskopisch noch auf der Kultur. Dagegen starben die Tiere in 12 Stunden ohne Durchfall, wenn man ihnen starke Kulturdosen des Kokkobacillus intraperitoneal injizierte. Bei der Autopsie fand sich kein peritoneales Exsudat, aber im Herzblut und in den Abdominal- und Thoraxorganen (Leber, Milz, Nieren) waren zahlreiche Kokkobacillen vorhanden und aus diesen Organen konnte man üppige Reinkulturen erhalten.

Brons teilt in seiner Arbeit keine Ergebnisse von Impfungen in die Vorderkammer und den Glaskörper mit. Die Impfung mit Reinkulturen meines Kokkobacillus an diesen beiden Stellen führte zu einer Panophthalmie.

Aus allem dem kann ich schließen, daß die morphologischen, kulturellen und pathogenen Merkmale des Kokkobacillus so verschieden vom Gonococcus, Meningococcus und Micr. catarrhalis sind, daß eine Verwechselung in keiner Weise möglich ist.

So bleibt nur noch die Differentialdiagnose von den 3 gramnegativen Diplokokken, die v. Lingelsheim im Rachen fand, übrig: Diplococcus pharyngis cinereus, siccus, flavus (I, II, III). Der Diplococcus pharyngis siccus unterscheidet sich von ihm durch seine sehr trockenen und zähen Kolonieen, welche sich nicht in Flüssigkeiten auflösen lassen. In mikroskopischen Präparaten sind ferner gramnegative Diplokokken zu sehen.

Der Diplococcus pharyngis cinereus ist größer und plumper als der Micr. catarrhalis; wächst sehr spärlich auf Kulturen und bildet auf gewöhnlichem Agar einen weißen Belag.

Der Diplococcus pharyngis flavus unterscheidet sich von den beiden anderen durch seine Agarkolonieen, welche von gelbgrünlicher Farbe sind; morphologisch ist er dem Micr. catarrhalis sehr ähnlich.

So sind auch diese drei von Lingelsheim beschriebenen gramnegativen Diplokokkenarten mit dem Kokkobacillus nicht zu verwechseln. Auch der Vergleich des Kokkobacillus mit anderen auf und außerhalb der Conjunctiva[1]) beschriebenen gramnegativen Arten ergab deutliche Unterscheidungsmerkmale.

Nun erhebt sich noch die Frage, ob der Kokkobacillus nicht bloß ein zufälliger, ganz ausnahmsweiser Gast der menschlichen Conjunctiva sei.

Darauf kann ich nach einem im Besitz von Herrn Prof. Axenfeld befindlichen, ungedruckten Manuskript folgendes entgegnen:

Im Jahre 1903 züchtete Dr. B. Kayser (jetzt in Stuttgart) in der Freiburger Augenklinik aus einigen Conjunctivalsekreten leicht entzündeter Bindehäute 4 Arten gramnegativer Mikroorganismen, eine von ihnen war der Tetragenus auranticus, welcher sich nach Gram langsam entfärbte.

Obschon die Arbeit des Dr. Kayser nicht auf alle von mir erörterten Merkmale eingeht, so läßt sich doch mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit schließen, daß eine von ihm gezüchtete Art alle charakteristischen Merkmale des Micr. catarrhalis hatte. Ueber die beiden letzten Arten finden wir im Kayserschen Manuskript sehr eigentümliche Mitteilungen, die ich hier kurz zusammenfasse: Alle beide zeigten große Aehnlichkeit miteinander. Die eine war von einem Ulcus serpens mit Pneumokokken gezüchtet, die andere von einer Keratitis aspergillina. Diese Mikroorganismen zeigten verschiedene Formen, runde, unbewegliche oder längliche, mit den abgerundeten Enden vereinigte (0,6 $\mu \times 0{,}9\ \mu$) Diplokokken.

Besonders deutlich waren diese Mischformen in Bouillonkultur zu sehen. Auf anderen Nährböden war die Kokkenform überwiegend. Gutes Wachstum auf allen Nährböden, lange Lebensdauer. Die Agarkolonieen sind opak, gelblichgrau und charakteristisch feucht und zart, glattrandig, sehr groß, im Kondenswasser ein schleimiger und dicker Bodensatz. Die Kulturen blieben für lange Zeit feucht, dann wurden sie aber bröckelig und granuliert. Auf Serum waren dieselben feuchten, üppigen Kolonieen vorhanden. In Gelatine Entwickelung bei Zimmertemperatur, mehr oberflächlich als in der Tiefe; Gelatine wird nicht verflüssigt. Gutes Wachstum in Bouillon nach 24 Stunden, mit dickem, schleimigem Bodensatz, welcher beim Schütteln sich langsam in Spiralen aufwirbeln läßt und die Bouillon homogen trübt. Milch wurde nicht koaguliert; Wachstum auch auf Kartoffel; die Kolonieen sind feucht. Fakultativ anaërob, sie wachsen bei Zimmertemperatur und im Brutschrank, aber auch bei 0°.

Eine intraperitoneale Injektion von 3 ccm einer Bouillonkultur tötete ein Meerschweinchen, und eine Injektion von 2 ccm in weiße Mäuse tötete diese in 12 bis 20 Stunden.

---

1) cf. Handbuch v. Kolle-Wassermann. — Die Bakteriologie v. Lehmann-Neumann.

Im Herzblut fand sich der Mikroorganismus. Eine Injektion von 0,2 ccm Bouillonkultur in die Vorderkammer rief nach 16 Stunden eine heftige Iritis mit Synechien und Hypopyon hervor. Die Hornhaut wurde trübe.

Das sind die Mitteilungen, die ich im Kayserschen Manuskript fand; denn leider konnte Kayser aus äußeren Gründen seine Arbeit nicht zu Ende führen.

Wenn ich die Forschungen Kaysers mit den meinen vergleiche, sehe ich daraus eine so große morphologische, kulturelle und pathogene Identität der beiden letzteren Kayserschen Arten mit meinem Kokkobacillus, daß ich mir den Schluß erlaube, daß diese beiden Arten nicht zu dem Micr. catarrhalis gehörten, sondern dem Kokkobacillus mindestens sehr nahe stehen. Diese Erörterungen gestatten mir, den Kokkobacillus als keinen zufälligen Gast der Conjunctiva betrachten zu dürfen, da er schon früher einmal bei anderen Augenerkrankungen in Gemeinschaft mit anderen pathogenen Keimen beobachtet worden ist. Seine Häufigkeit und seine Bedeutung bei verschiedenen Augenkrankheiten wird sich erst später bei fortgesetzten Untersuchungen erweisen können.

Zusammenfassung.

1) Der oben beschriebene neue gramnegative Keim zeichnet sich dadurch aus, daß er mitunter als Diplococcus, auf anderen Nährböden dagegen in bacillärer Form auftritt.

2) Durch seine morphologischen, kulturellen und pathogenen Eigenschaften ist er sehr leicht von den anderen gramnegativen Keimen zu unterscheiden.

3) Wegen seiner wechselnden Form kann man ihn weder zur Kategorie der reinen „Kokken“, noch zu der der Bacillen rechnen, und deshalb glaube ich, es wäre passend, ihn als „Kokkobacillus“ anzusehen und mit dem Namen **„Coccobacillus conjunctivae“** zu bezeichnen.

4) Mäßige Tierpathogenität; auf der normalen menschlichen Bindehaut ruft er keine Veränderungen hervor, dagegen verursacht er bei Einimpfung in das Innere eines Kaninchenauges eine Panophthalmie.

5) Ich habe den Kokkobacillus zwar nur einmal in einem Fall von Conjunctivitis diphtherica gefunden, gemeinsam mit dem Diphtheriebacillus, aber mit Wahrscheinlichkeit ist er von B. Kayser als Nebenbefund auch bei anderen Augenerkrankungen beobachtet worden (bei Ulcus serpens neben Pneumokokken, bei Keratitis aspergillina neben Aspergillus fumigatus). Ob der Kokkobacillus in der Pathologie des menschlichen Auges eine ätiologische Bedeutung hat, läßt sich deshalb bisher nicht sicher sagen. Es ist aber auch keineswegs ausgeschlossen.

Zum Schluß möchte ich mir gestatten, Herrn Geh. Hofrat Prof. Dr. Axenfeld und seinem 1. Assistenten, Herrn Prof. Dr. Stock, meinen ergebensten Dank für die Anregung und Förderung bei meiner Arbeit auszusprechen.

Literatur.

elsdorf-Neumann, Arch. f. Augenheilk. Bd. 42. 1901. p. 78.
recht u. Ghon, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. 34. p. 793.
enfeld, Die Bakteriologie in der Augenheilkunde. 1907.

Ruata, *Kokkobacillus der menschlichen Bindehaut.*

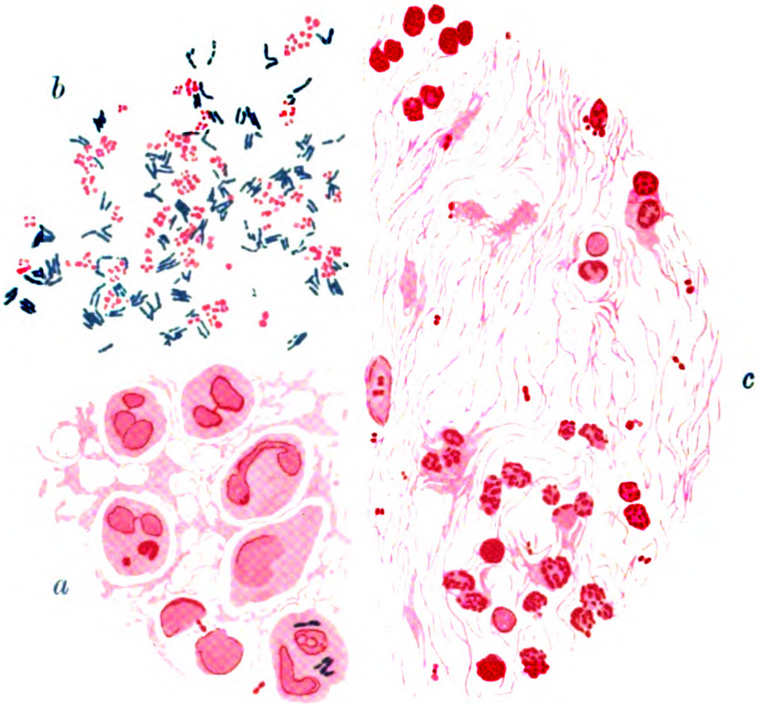


Fig. 1.

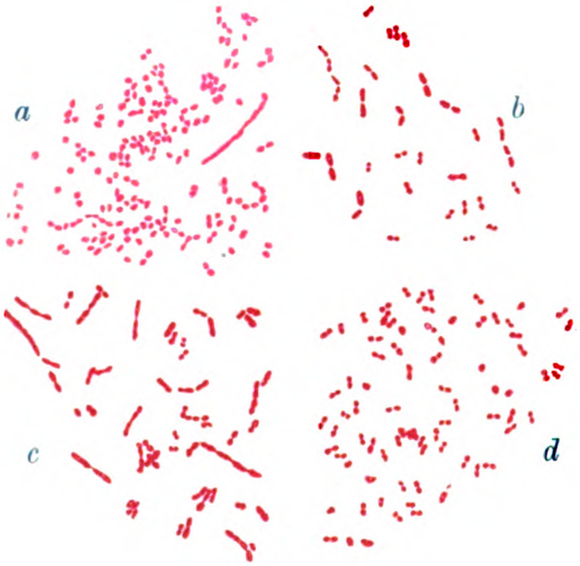


Fig. 2.

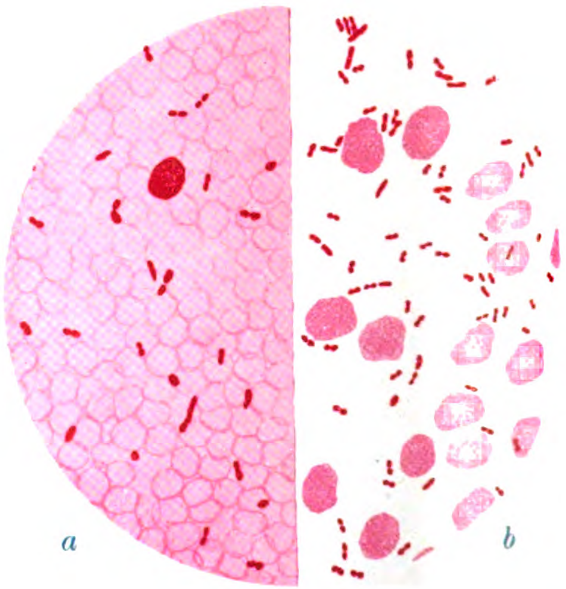


Fig. 3.

Verlag von **Gustav Fischer** in **Jena.**

Brons, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 1. 1901. p. 1.
Ghon, A., Pfeiffer, H. u. Sederl, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 40. 1902.
Krukenberg, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 37. 1899. p. 271.
—, Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. 39. p. 604.
—, Weitere Mitteilungen über gramnegative Kokken. (Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. 1901. p. 611.)
—, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Referate. Bd. 31. p. 475.
Lehmann-Neumann, Bakteriologie. 1904.
v. Lingelsheim, Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906. p. 392.
— Klin. Jahrb. Bd. 15. 1906. p. 428 u. 408.
Marthen, Deutschmanns Beiträge zur Augenheilkunde. Bd. 12. 1893.
Neisser, Micr. catarrhalis. (Kolle-Wassermann. Bd. 3. p. 146.)
Petruschky, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 36.
Steinschneider u. Schäffer, Berl. klin. Wochenschr. 1895. p. 45.
Thalmann, Centralbl. f. Bakt. Bd. 27. p. 28 u. Bd. 31. p. 79.
Weichselbaum, Handb. von Kolle u. Wassermann. Bd. 3. 1903. p. 268.
Wertheim, Arch. f. Gynäkol. Bd. 42. 1892. p. 25.

Tafelerklärung.

Fig. 1. a Der Kokkobacillus im Conjunctivalsekret unserer Kranken. b Der Kokkobacillus auf Blutserumkultur, gemeinsam mit dem Diphtheriebacillus. c Der Kokkobacillus im Glaskörperexsudat.

Fig. 2. a 24-stündige Agarkultur, 3. Generation. b 24-stündige Bouillonkultur. c 5-tägige Bouillonkultur. d 24-stündige Agarkultur, 40. Generation.

Fig. 3. a Der Kokkobacillus im Herzblut einer weißen Maus (wenige Minuten nach dem Tode). b Der Kokkobacillus in der Milz einer weißen Maus (wenige Minuten nach dem Tode).

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über das Molluscum contagiosum des Menschen.

[R. Clinica Dermosifilopatica di Roma (Prof. Campana).]

Von Dr. **P. Sabella.**

Mit 3 Figuren.

Der Gegenstand meiner Arbeit ist das Studium des Molluscum contagiosum des Menschen in seiner Aetiologie, in Beziehung zu der Pathologie der Haut und die Untersuchung, ob die bekannten Molluscumkörper ein spezifisch organisierter Ausdruck eines lebenden Erregers seien oder eine Degenerations- oder Reaktionsphase der Epithelzellen der Epidermis darstellen.

Ich habe drei Reihen von Impfversuchen mit Material des Molluscum contagiosum in die Augen der Kaninchen ausgeführt:

1) Einimpfung kleiner, der Haut der im Ambulatorium und in den Sälen der Kgl. Klinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten in Rom unter Behandlung stehenden Kranken entnommener Molluscumfragmente in die Dicke der Hornhaut der Kaninchen.

2) Einimpfungen desselben Materials in die vordere Augenkammer.

3) Ueberimpfung von 48 Stunden lang und mehr in Alcohol absol. aufbewahrten Molluscumfragmenten in die vordere Augenkammer.

Die meisten der in die Hornhaut ausgeführten Ueberimpfungen fielen negativ aus. Fast immer, und wir glauben wegen der geringen Affinität der Gewebe, ist das Ausfallen des überpflanzten Materials durch Nekrose der losgelösten Hornhautblättchen eingetreten, was weder bei den von mir gemachten Impfungen mit Kaposischem Sarkom, noch bei den mit Aussatz von Prof. Campana ausgeführten Impfungen eingetreten war.

Nur bei einigen dieser Versuche der ersten Reihe hielt die Ueberimpfung länger Stand, und in diesen Fällen haben wir nach Herstellung der mikrotomischen Schnitte der Hornhäute unter dem Mikroskop die Anwesenheit zwischen den Hornhautblättchen eingeschlossener Molluscumkörper beobachten können, und unter diesen kaum einige mit trübem oder feinkörnigem Protoplasma und mit einigen seltenen Beispielen von Segmentation. Das heißt: Wir sind dort auf denselben Befund gestoßen, wie bei den Schnitten des direkt studierten Molluscummaterials des Menschen, aber in geringerer Menge in den Resten der überpflanzten Fragmente.

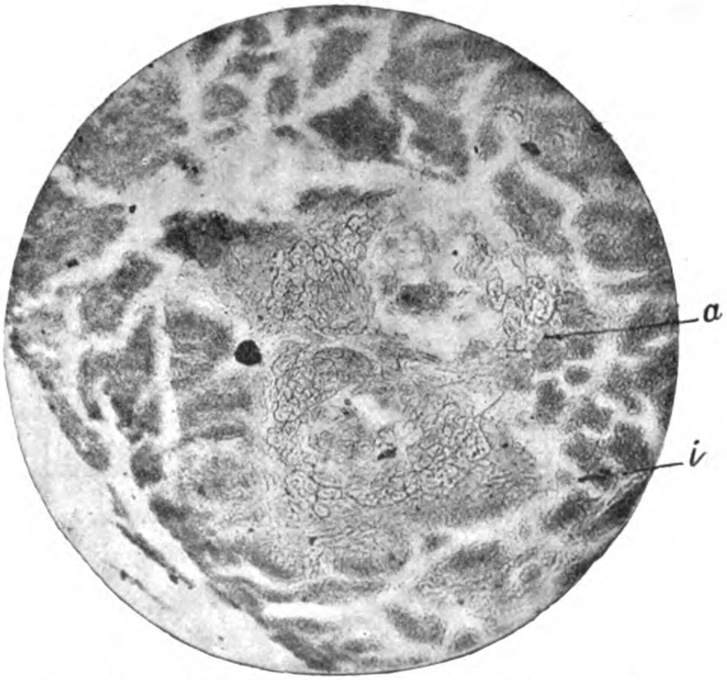


Fig. 1. *a* Molluscumkörper, *i* Granulationsgewebe.

Analoge, auch intracorneale Impfungen, welche aber reihenweise von Kaninchen zu Kaninchen ausgeführt wurden, haben keine abweichenden Resultate ergeben; dies beweist, daß diese Impfungsart weder die geeignetste ist, noch durch aufeinanderfolgende Versuche eine solche wird.

Bei den Ueberimpfungen der zweiten Reihe hingegen haben sich sowohl bei der oberflächlichen Beobachtung, wie bei den histologischen Untersuchungen andere Phänomene gezeigt, welche auf ein Gelingen der Impfung hinweisen, nämlich langes Verbleiben des Impfstoffes ohne schwere Reaktionsphänomene; größere Evidenz desselben durch eine gewisse Umfangsvermehrung nicht mehr unter der Form des eingeimpften Bruchstückes, sondern eines größeren, oft lappigen Knötchens; Aufhellung der den Impfstoff umgebenden Teile, größere Differenzierung der Struktur der Körperchen.

Die mikrotomischen Befunde sind:

Bei schwacher Vergrößerung findet man ein junges Granulationsgewebe, und in der Mitte desselben gewahrt man das überpflanzte

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

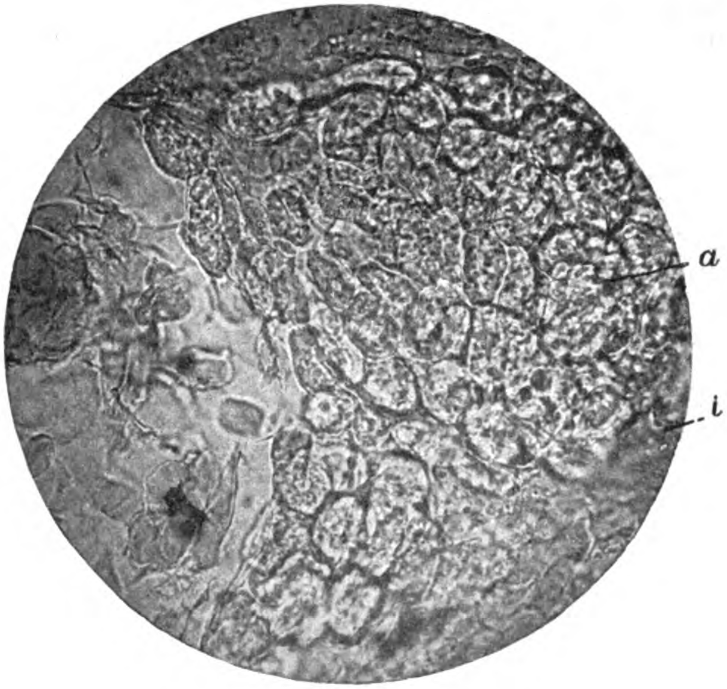


Fig. 2.

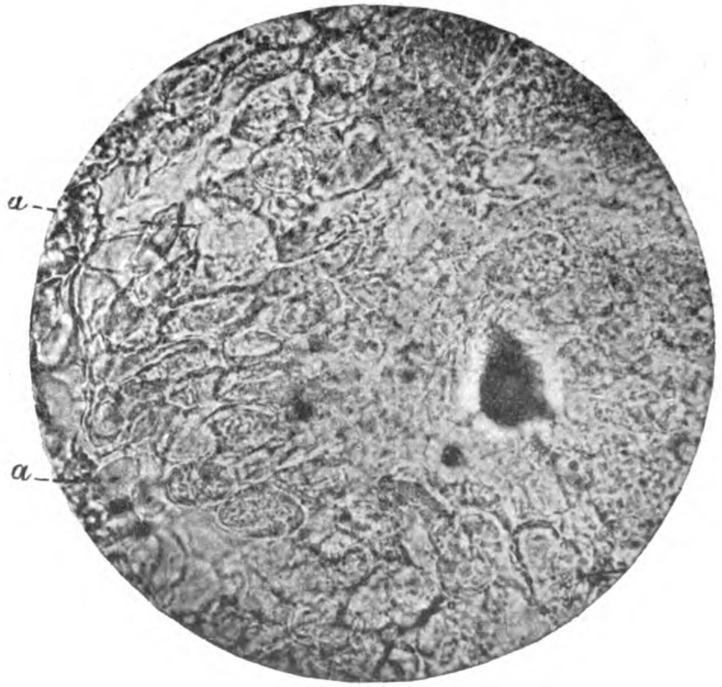


Fig. 3.

Fig. 2 u. 3. *a a* Molluscumkörper mit Gruppierungen von sporenförmigen endocellulären oder extracellulären Körperchen, *i* Granulationsgewebe.

Molluscummaterial, bestehend aus Körperchen, die ohne besondere Gestaltung im Zentrum der Ansammlung angeordnet, an der Peripherie in Gruppen vereinigt und in Form von Lappungen und Ausläufern mitten in der Kleinzelleninfiltration angeordnet sind, wie bei der Morphologie des Molluscum contagiosum des Menschen (Fig. 1).

Bei stärkerer Vergrößerung zeigen sich die Molluscumkörper natürlich deutlicher. Sie sind in dem zentralen Teil der Impfung oval, mit homogenem Inhalt, ohne besondere Merkmale; gegen die Peripherie hin sind sie von größeren Dimensionen und zeigen in ihrem Innern in größerer oder geringerer Zahl Körperchen, die wenig deutlich sind, weil sie sich schwer färben lassen. Neben diesen Körperchen heben sich bei konzentrierterem Licht zwischen den Pigmentkörnchen kleine Körperchen hervor, wie Sporen eines monocellularen Hyphomyceten, rund, durchsichtig, einige mit doppeltem, andere mit nur einem Umkreis versehen, aneinandergedrängt und so vereinigt, daß sie eine eiförmige Gestaltung annehmen oder einen unregelmäßigen Raum zwischen den großen anliegenden Körperchen ausfüllen. Einige dieser Gruppierungen sind von einem formlosen Blättchen begrenzt oder durchschnitten, welches an die Kapsel der eiförmigen Körper des Molluscum contagiosum des Menschen erinnert.

Die genannten kleinen Körperchen haben meistens den Durchmesser von 1 μ; in einigen Gruppierungen jedoch sind sie größer, aber in jeder einzelnen Gruppierung haben sie alle die nämliche Größe. An einigen Punkten sind die kleinen sporenförmigen Körperchen in so großer Zahl vereinigt und angesammelt, daß sie fast an eine Schimmelvegetation denken lassen (Fig. 2 u. 3).

Die Molluscumkörper zeigen, wie wir gesagt haben, im zentralen Teil der Ueberpflanzung ihre wohlbekannte Morphologie, das heißt: Deutliche und färbbare Kapsel, welche um das neugebildete Körperchen von den Resten des Protoplasmas der Epithelzellen, wie man es beim Molluscum des Menschen beobachtet, gebildet wird. An dem peripherischen Teil unserer Schnitte dagegen haben wir die Anwesenheit einer Kapsel, von welcher die Sporen in größerer oder geringerer Zahl eingeschlossen wurden, nur selten beobachtet. Wenn dies der Fall ist, kann man annehmen, daß innerhalb der von uns geimpften ursprünglichen, eiförmigen Körper ein Endosporulationsprozeß, wie derjenige, welchen wir innerhalb der Ovalbildungen des Molluscum contagiosum finden, stattgefunden habe.

Es ist hervorzuheben, daß bisweilen sich ergab, daß jene scheinbare, von uns wahrgenommene, aber wenig gefärbte und unbestimmt charakterisierte Kapsel, welche an die Kapsel des Molluscum contagiosum erinnert, aus lymphatischen Gewebsmaschen bestand, welche unregelmäßige Räume abgrenzten, innerhalb deren die Sporen in ihren verschiedenen Entwickelungsstadien, von größerem oder geringerem Umfang, aber immer von gleichen Dimensionen bei jeder Gruppierung angesammelt und zusammengepreßt waren.

In den meisten Fällen dagegen fand man, wie wir gesagt haben, daß die Sporen in unregelmäßiger Weise gruppiert oder frei verbreitet waren, ohne irgendwelchen Anschein einer Kapsel, und zwar da, wo die Maschen des lymphatischen Gewebes fehlten. Daher glauben wir, daß es sich um Endosporulation innerhalb der in der vorderen Augenkammer des Kaninchens nach der von uns vorgenommenen Ueberpflanzung neugebildeter Molluscumkörperchen und folglich nicht in den Protoplasma-Epithelzellen, wie bei der Haut des Menschen, handelt. Deshalb sind sie jenes kapselähnlichen Aussehens beraubt, welches um diese Körperchen herum die Reste der vom Parasiten eingenommenen Epithelzellen gebildet hätten.

Daß es sich um an dem Sitze der Impfung erfolgte Wucherungen handelt, ersehen wir aus der Tatsache, daß derselbe Impfstoff vor dem Ausschnitt der Hornhaut eine langsame, stufenweise Vermehrung des Umfanges gezeigt hatte, und dann ferner daraus, daß wir in den Präparaten von direkt dem Menschen entnommenen und mit derselben Technik gefärbtem Material des Molluscum contagiosum die gewöhnlichen Körperchen mit homogenem, einige mit körnigem oder einem solchen Protoplasma angetroffen haben, das eine teilweise und unbestimmte endocelluläre Segmentation zeigte, aber wir haben niemals dabei denselben Reichtum von Anhäufungen von sporiformen Körperchen getroffen.

Zu demselben Schlusse führen uns die in der dritten Versuchsreihe erhaltenen mikroskopischen Befunde. In den Augenschnitten mit Impfung des Molluscum contagiosum, welche mit Material ausgeführt wurden, das in absolutem Alkohol gehalten war, um in demselben jedes Lebenselement auszulöschen, haben wir einen größeren oder geringeren Reichtum von gewöhnlichen Molluscumkörpern beobachtet, doch waren alle ein wenig klein und welk, mit homogenem oder körnigem oder teilweise segmentiertem Protoplasma, ohne Struktur- und Verteilungsunterschiede zwischen dem zentralen und dem peripherischen Teil des Impfstoffes. Wir haben dabei keine Anhäufung kleiner, leuchtender, sporenförmiger Körperchen mit oder ohne Kapselaussehen getroffen, wie wir sie bei den Schnitten der vorhergehenden Experimente beschrieben haben.

Vor dem Ausschnitt der Hornhaut haben wir keine Vermehrung, sondern stufenweise Volumenverminderung des Impfstoffes beobachtet. Das führt uns zu dem Schlusse, daß die Wirkung des absoluten Alkohols die Lebenskraft des Parasiten des Molluscum zerstört, und daß sie deshalb die endogene und exogene Proliferation jener sporulären, vorhin beschriebenen Formen verhindert habe, und daß diese also wirklich den lebenden parasitären Erreger des Molluscum contagiosum darstellen. Andererseits führt sie uns zu der Ueberlegung, daß, wenn es sich nicht um lebende parasitäre Elemente, sondern um Produkte von Zellendegeneration handelt, man diese bereits durch den Krankheitsprozeß selbst stark veränderten, sowie durch die Wirkung des Alcohol absol. in ihrer histologischen Struktur mehr zersetzten epithelialen Zellenelemente einen schnelleren histolytischen Prozeß erleiden und sich vom Sitze der Ueberpflanzung viel schneller wieder absorbieren sehen müßte.

Es lag nicht in unserer Absicht, die beschriebenen parasitären Formen zu erklären und zu klassifizieren. Doch glauben wir, dem bewährten Urteile unseres Lehrers folgend, behaupten zu können, daß, wenn man früher die parasitäre Natur der klassischen Körperchen des Molluscum contagiosum gegenüber der Meinung anderer, daß dieselben als Degenerations- oder Reaktionsprodukte der Zelle zu erklären seien, in Zweifel ziehen konnte, jetzt bezüglich der parasitären Natur der von uns in so zahlreichen Aggregationen wahrgenommenen intra- und extrakorpuskulären Sporen kein Zweifel mehr herrschen kann.

Welche Verwandtschaftsbeziehung besteht nun zwischen den von uns beschriebenen sporenförmigen Körperchen und den klassischen Molluscumkörpern?

Andere mögen es sich zur Aufgabe machen, sie zu erklären und festzustellen, welche Affinität, und ob eine solche, zwischen den be-

schriebenen Formen und den sogenannten Prowazekschen „Initialkörpern“ (der großen Gruppe der Chlamydozoa) besteht.

Unserem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Campana, drücken wir auch an dieser Stelle unseren verbindlichsten Dank für die Anregung zu dieser Arbeit aus.

Nachdruck verboten.

On a new parasitic Amoeba, Entamoeba nipponica, found in the intestine of Japanese.

[From the Imp. Gov. Instit. for Infect. Diseas. Tokio, Japan.
(Director: Prof. S. Kitasato).]

By Dr. **M. Koidzumi.**

With 7 figures.

While devoting myself to the study of parasitic amoeba, I encountered, in much advanced cases of amoebic dysentery, various developmental stages of a peculiar form, in company with Entamoeba histolytica. After that the same form was found in more slight cases and even those of bacillary origin. This discovery led me to a further research, which convinced me with the fact that this form is not so rare in the faeces of patientes suffering from diarrhoea. Studying the morphology and the mode of reproduction, I arrived at the conclusion that this amoeba is new to science and named it “Entamoeba nipponica”. Before two meetings of medical associations, held in February and April, 1909, I demonstrated the preparation and published the manuscript in Japanese.

When examined in vegetative stage, the general features of this parasite is evidently of so-called “limax-type”. The pseudopodium is never spinose, and the shape, while in motion, does not change much because of the broad and leaf-like lobopodium. The adult individual is oval, measuring usually from 20 to 30 microns in length and from 15 to 20 microns in width, and very seldom it exceeds 40 microns. According to my actual measurement Entamoeba histolytica varies between 25 to 30 microns and shows no remarkable difference from Entamoeba nipponica. Measurements of Entamoeba coli taken by various writers differ a great deal; Casagrandi and Barbagallo (1897) gave the size of this species as from 20 to 25 microns or 25 to 35 microns; Schaudinn (1903) as varying between 8 to 50 microns; while Craig (1908) has remarked; “it is very seldom that one of these organisms is observed exceeding 25 to 30 microns in diameter, and as a rule this organism measures from 10 to 30 microns”. Unfortunately my measurement of Entamoeba coli was not numerous enough to ascertain this question, yet three Japanese intestinal amoeba (Entamoeba histolytica, Entamoeba nipponica and Entamoeba coli) do not differ so cosiderably from each other in size.

The cytoplasmic structure of this amoeba beares a very close resemblance to that of Entamoeba tetragena (= Entamoeba africana) described by Hartmann (1908). When examined in living condition, the marked differentiation to the ectoplasm and the endoplasm as seen in Entamoeba histolytica is found also in this species, but in our form the ectoplasm is usually thinner than in the latter and the endoplasm of the former is far more voluminous than in the latter occupying $^4/_5$ or more of the body (according to my observations the endoplasm of Entamoeba histolytica is often limitted to $^1/_3$ of the body). The endoplasm appears perfectly hyaline and very refractile to light. But compared with that of Entamoeba histolytica it seems thinner in consistency and less refractile. The endoplasm is light grayish in colour and has a structure of its own, distinguishing from allied forms. The endoplasm of Entamoeba nipponica is much more granular and appears coarser than that of Entamoeba histolytica. It is always vacuolated in constant with Entamoeba histolytica; sometimes the vacuoles are small and very numerous giving a spongy appearance to the cytoplasm; sometimes they are large and small in number, often aggregated at the middle part of the body. The most interesting character of this form is that they are phagocytic for red blood corpuscles. Judging from its occurence in the healthy as well as in the pathologic intestine, it is doubtless that the blood corpuscle is not the necessary material for its nutrition. But, on the other hand, the active multiplication of this amoeba always takes place in company with the enteric inframmation, and it is clear that they are supplied with this sort of food while they are in the height of multiplicative activity. This furnishes us an interesting fact contradicting the hitherto known fact of the destitute of phagocytic activity in the non-pathogenic amoeba.

Almost invariably a well defined nucleus is demonstrable in the endoplasm even in fresh and active condition. As to this character, it resembles Entamoeba coli and Entamoeba tetragena and differs from Entamoeba histolytica. As a rule the nucleus is of spherical shape (though sometimes elliptical) measuring 5 to 7 microns in diameter. The structure of the nucleus, especially the arrangement of the chromatic substance is most important characteristic to Entamoeba nipponica. The nuclear membrane is very delicate yet distinctly visible. The nuclear

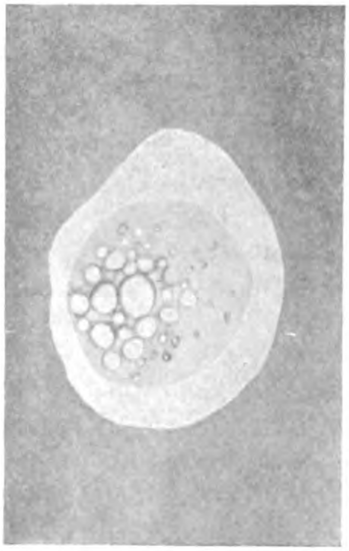


Fig. 1.

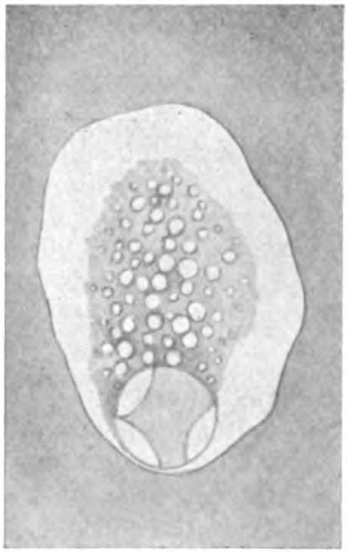


Fig. 2.

plasm does not show either reticular or alveolar structure. The nucleus is very rich in chromatin which is found condensed into several clumps and closely situated on the inner surface of the nuclear membrane. Neither chromatin spherules floating in the nuclear sap nor distinct nucleoli are found. In the living animal, the chromatin clumps are distinctly visible as refractile masses. Sometimes they are crescent or spindle shape lying on the membrane by its entire length; sometimes they assume a more spherical shape attaching to the surface by a relatively small portion of the body. Their number and shape vary in parallel with the age of the nucleus, ipso facto, that of the individual. The number of the chromatin clumps in the vegetative stage usually numbers from 3 to 8 (fig. 1 and 2).

As to the method of the reproduction, division, schizogony and encysting has been observed.

1) Multiplication by division. In simple division the nucleus performs an amitotic binary fission. This seems to occur even in very young stages.

2) Schizogony and development of merozoite. In some amoeba chromatin clumps, which, in vegetative condition, have been found attached in a rather flattened form closely to the surface of the membrane, change their form and become more spherical bodies varying in number from 6 to 8, of nearly equal size, barely adhering on the surface. This is the first step towards schizogony. Then the thin and delicate nuclear membrane becomes more and more indistinct until finally disappears. Thus the chromatin spherules, rounded as already described, are now found in the cytoplasm. After that, these bodies appropriate certain amount of cytoplasm by themselves and the whole amoeba breaks up into so many small merozoites. The above processes bear a striking resemblance to the schizogony of Entamoeba coli described by Schaudinn (1903), and to the figures (fig. 8, 9 and 13) given by Casagrandi and Barbagallo (1897) in their valuable paper, yet the only difference can be found between them consist in the inconstancy in number and the slight inequality of the size of the spherules on the side of Entamoeba nipponica.

The merozoite, the product of the schizogony, is oval or spherical and measures some 5 microns in diameter. The cytoplasm is comparatively thick in consistency and stains rather deeply. The nucleus

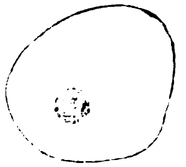


Fig. 3.

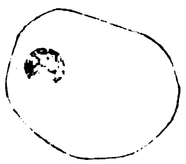


Fig. 4.

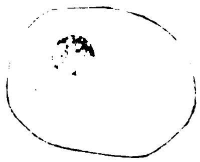


Fig. 5.

of the youngest merozoite is simply a chromatin spherule (fig. 3). The process of metamorphosis of such a primitive nucleus to that of the normal vegetative stages is as follows. The first indication of the change is the increase of its size and the formation of the nuclear membrane over its surface. As in the well known process in the formation of karyomeres the achromatic portion is added to the chromatic. A striking resembrance to the change is observed in the chromosom

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

metamorphosis during the spermatozoa formation of Paludina studied by Meves (1902) (fig. 4 and 5). After some time the nucleus assumes the normal vesicular form, its chromatin taking a falciform or that of biconvex lens in it. Then the chromatin mass are constricted off into two. This fission is repeated until the normal number of the spherules are regained. Finally the nucleus assumes the characteristic appearance of the vegetative condition. While these changes are taking place in the nucleus, the cytoplasm also differentiates itself into its various constituents of vegetative stage.

3) Encysting and chromidium formation. In a strongly infested case I encountered with many encysted individuals showing an interesting behavior of the chromatin which was no other than chromidium formation. Before encysting the body is reduced and then a thin layer is differentiated over it. A number of chromatin clumps lying just beneath the nuclear membrane gradually find their way to the endoplasm through the latter (fig. 6). The mode of passing through the membrane is quite interesting. They pass out bodily, the delicate nuclear membrane apparently remaining unchanged. The chromatin spherules in the endoplasm are comparatively large and remain unchanged for a long time. The mode of the chromidium formation observed here seems quite identical with that of Coccidium falciforme described by Wenyon (1907). Prowazek (1904) also has reported a similar mode of chromatin liberation in Entamoeba buccalis. The chromatin remaining in the nucleus (reduced nucleus) become fragmented into smaller granules and distributed evenly on the entire surface of the nuclear membrane (fig. 7).

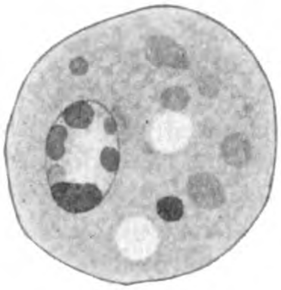


Fig. 6.

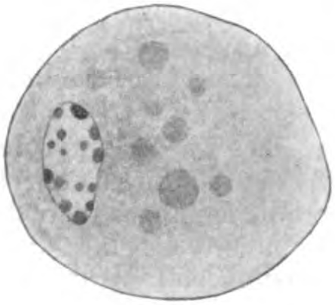


Fig. 7.

Unfortunately I could not succeed in following further development of the reduced nucleus, yet it can not be doubted that the above process is a prelude to the special mode of reproduction. Moreover I observed some individuals with a large, or two small, nuclei with finer chromatin granules. It may be infered that these represents the stages of autogamy of encysted amoeba, though by any means say positively.

The present paper is a preliminary communication and will be followed by a second, in which more detailed study of the life-cycle, statistics, histology of the infested intestine, etc. will be given.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

References.

1) Casagrandi e Barbagallo, Ann. d'Igiene sperim. Vol. 7. 1897.
2) Craig, Journ. of Infect. Diseas. Vol. 5. 1907.
3) Hartmann, Arch. f. Schiffs- u. Trop.-Hyg. Bd. 12. 1908. Beiheft 1.
4) Meves, Arch. f. mikroskop. Anat. Bd. 61. 1902.
5) Prowazek, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 21. 1904.
6) Schaudinn, Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. 19. 1903.
7) Wenyon, Arch. f. Protistenk. Sup.-Bd. 1. 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber den Entwickelungsgang des „Haemoproteus orizivorae“ nov. spec.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg (Leiter: Med.-Rat Prof. Dr. B. Nocht).]

Von Dr. **Germán Anschütz,**
Sanitätsinspektor des Gesundheitsamts zu Buenos Ayres,
kommandiert z. Zt. nach Deutschland.

Mit 2 Tafeln.

Nach der Entdeckung des Malariaparasiten durch Laveran im Jahre 1881 wurde die Aufmerksamkeit der wissenschaftlichen Welt auf naheverwandte Protozoenparasiten aus dem Blute niederer Tiere gelenkt, und zwar zum Teil, um die verwickelte Entwickelungsgeschichte des Malariaparasiten auf Grund eines bequemen erhältlichen Materials zu ergänzen, und zum Teil neue Gesichtspunkte für weitere Studien zu finden. So wurde zunächst das Proteosoma und Halteridium der Vögel untersucht, das 1894 zuerst von Labbe beschrieben, von Opie und Mac Callum genau auf seine Lebensgeschichte studiert wurde. Der letztere Forscher machte bei Halteridien die wichtige Entdeckung von der Geißelung der Mikrogameten und verfolgte auch den Befruchtungsvorgang, der für die Malariaforschung von fundamentaler Bedeutung war.

Im Jahre 1901 nahm Schaudinn die Halteridienstudien wieder auf und konnte den für die weitere Trypanosoma-Forschung außerordentlich wichtigen Beweis erbringen, daß in den Entwickelungskreis des Halteridium des Steinkauzes Trypanosoma-Formen hineingehören, die sowohl periodisch im eigentlichen Wirt auftreten, als auch aus dem Ookineten in Culex pipiens sich differenzieren und in Trypanosomenform den Steinkauz infizieren.

Diese Beobachtungen erregten allseits das lebhafteste Interesse, wurden anfänglich von den Brüdern Sergent bestätigt, in der Folgezeit verhielt man sich ihnen gegenüber ablehnend, sie konnten aber nachher wenigstens in dem Hauptpunkt: „Umwandlung des Halteridiums in Flagellaten“ durch Rosenbusch sowie durch noch nicht publizierte Beobachtungen von Meyer und Prowazek bestätigt werden. Für die Halteridienforschung war ferner die Arbeit von Beaupaire Aragao über Haemoproteus columbae von Wichtigkeit, indem er bei diesen Parasiten eine intracelluläre Schizogonie entdeckte, dagegen keine Trypanosoma-Stadien auffinden konnte. „Es erübrigt sich, auf den großen Unterschied hinzuweisen zwischen dem von uns gefundenen Entwickelungszyklus von Haemoproteus columbae und dem von Schaudinn beschriebenen von Haemoproteus noctuae. Dieser Unterschied läßt uns seine scharfe Trennung zwischen den beiden Blutparasiten gerechtfertigt erscheinen“ (Aragao). Die Abtrennung beider Arten beabsichtigen auch wir in der Weise außerdem zum Ausdruck zu bringen, daß wir für die Halteridien, die in ihrem Entwickelungskreis ein Trypanosoma besitzen, die Bezeichnung Halteridium (Schaudinn) beibehalten, dagegen die Formen, die in ihrer Entwickelung mit dem Haemoproteus columbae übereinstimmen, unter Haemoproteus (Aragao) zusammenfassen.

Jede Art von Vögeln hat ihr besonderes Halteridium bezw. Haemoproteus. So beherbergt das Halteridium noctuae von Celli und Sanfelice das Glacidium noctua, deren Sporogonie Schaudinn in Culex pipiens entdeckt hatte. Parasiten derselben Art, aber nicht ähnlich, sind in dem Blute des Strix flammea Scops und bei der algerischen Eule zu finden.

Von weiterer Bedeutung sind der Haemoproteus passeris, der von Celli und Sanfelice in den italienischen, spanischen Hausspatzen gefunden wurde; ferner der Haemoproteus Fringillae der Fringilla coelebs; der Haemoproteus bubonis des Bubo-Bubo; der Haemoproteus sacharovi der Zenaidura cariolensis; der Haemoproteus majoris der Merula migratoria usw.

Es sind außerdem Parasiten des Blutes anderer Vögel beschrieben worden, wie diejenigen des Philloscopus bonellii, der Galerita cristata usw.; man kann aber derzeit noch nicht sicher behaupten, daß diese Parasiten von der Art des Halteridium sind.

Wir haben unsere experimentellen und morphologischen Studien an dem Blut von Spermestes orizivora oder Orizornis oryzivora (in Deutschland unter dem Namen Reisvogel bekannt) ausgeführt. Der genannte Vogel stammt aus Malaka, sowie den Sundainseln. Er ist auch auf Sumatra und Java heimisch. Auf dieser letzten Insel, in der Nähe von Padang, wird er mit dem Namen „Padda“ bezeichnet, wahrscheinlich von dem malayischen Wort Pahdi = Reis abgeleitet, da dieser Vogel die Reispflanzungen bewohnt und seine Nahrung vorwiegend aus Reis besteht.

Der „Padda“ wird auch „Gladick“ genannt und ist etwas größer als unser Kanarienvogel, hat schwarzen Kopf, roten Schnabel, der an der Spitze weiß wird, der Rücken ist graufarbig, während der Leib eine weinrötliche Farbe zeigt. Die Mehrzahl der untersuchten Vögel war mehr oder weniger stark mit Haemoproteus infiziert.

Wir wollen an dieser Stelle nicht genauer auf die Erörterung der Frage eingehen, wie weit der von uns untersuchte Haemoproteus morphologisch mit den anderen analogen Blutparasiten übereinstimmt, sondern wir wollen uns nur auf die Schilderung des Haemoproteus oryzivorae n. sp. beschränken. Mit der Bezeichnung „Haemoproteus“ bringen wir gleichzeitig zum Ausdruck, daß der Parasit sich wesentlich von dem von Schaudinn untersuchten Halteridium unterscheidet und eine echte Schizogonie besitzt.

In dem durch einen Lanzettstich in die Venen der Flügel oder unmittelbar aus dem Herzen erhaltenen Blut des Vogels haben wir zunächst immer zweierlei Formen feststellen können.

Die eine Form, die auch am häufigsten zu finden ist, erinnert an einen Halbmond mit abgerundeten oder eingebogenen Spitzen, es kommen aber auch sonst die verschiedensten Zellen vor; bei anderen Formen vereinigen sich die Enden des Parasiten derart, daß durch sie die ganzen roten Blutkörperchen vollkommen ausgefüllt werden, und die Parasiten umschließen dann den Kern des Blutkörperchens in der Art eines Ringes (Fig. 1 u. 2).

In anderen Fällen wieder ist das Blutkörperchen teilweise zerstört, und der Parasit bleibt, den Kern über $^3/_4$ seiner Fläche deckend, an diesem haften (Fig. 3 u. 4). Das Protoplasma des Parasiten färbt sich gleichartig blau und ist besonders auf gewissen schizogonischen Stadien, die wir gleich schildern werden, vakuolisiert. In den meisten Fällen konnte eine alveolare Struktur des Protoplasmas nachgewiesen werden. Gegen die Außenwelt ist der Parasit von einem dünnen Häutchen abgetrennt, wie Versuche mit Saponin dargetan haben. Der Kern ist von mittelmäßiger Größe und liegt bei den Formen, die wir zunächst als Makrogametocyten beschreiben, entweder in der Mitte oder ist gegen das eine Ende etwas verschoben, in diesem Falle konnte einigemale ein kleines Körperchen von roter Farbe nachgewiesen werden, das wir mit dem Blepharoplast zu homologisieren geneigt sind. Im allgemeinen besitzt der ovale oder rundliche zuweilen etwas deformierte Kern, der sich zart rot färbt, eine Andeutung einer Alveolarstruktur; zentral ist oft ein Karyosom sichtbar.

Im ganzen Parasiten verstreut liegen die Pigmentkörperchen, die dem Parasiten im frischen Blute sein charakteristisches Aussehen verleihen. Dieses Pigment ist ein Derivat des Blutfarbstoffes des befallenen roten Blutkörperchens. Es hat eine gelb-schwärzliche Farbe und ist mit der Eigenschaft ausgestattet, das Licht stark zu reflektieren. Die hier geschilderten Formen sehen wir als weibliche Zellen oder Makrogameten an, sie sind dadurch ausgezeichnet, daß sie eine tiefblaue Farbe bei der Färbung mit Giemsas Eosinazur annehmen und zumeist etwas größer sind als die bald zu schildernden männlichen Formen. Die Makrogameten treten nach der Reife im nativen Präparat aus den Blutkörperchen aus, runden sich ab, das Protoplasma konzentriert sich etwas, und die Parasiten sind befruchtungsfähig. Im Ausstrich aus dem Herzblut eines verendeten Vogels wurden auch freie Formen (Fig. 5) gefunden, die entweder rund (Fig. 5) oder oval (Fig. 6) waren. In Fig. 7 wurde ein Makrogametocyt mit einem blepharoblastähnlichen Einschluß abgebildet.

Was die Mikrogameten anbetrifft, so besitzen sie ein lichtblau färbbares Protoplasma und einen chromatinreichen, unregelmäßigen Kern. In ihren Jugendstadien sind sie rundlich (Fig. 8) und später strecken sie sich etwas und nehmen die charakteristische Halbmondgestalt an (Fig. 9). Der Kern wird noch chromatinreicher und gewinnt eine schwammartige Architektur (Fig. 9), in weiteren Stadien ruft er den Eindruck eines verschlungenen chromatischen Mäanders hervor (Fig. 10).

Bei der Reifung verläßt der Parasit gleichfalls das Blutkörperchen, rundet sich ab, das Protoplasma färbt sich zuweilen diffus mit der Rotkomponente des Eosinazurs, und die Kernstruktur büßt etwas von ihren bestimmten Umrissen ein (Fig. 11).

Im nativen Präparat tritt unter diesen Umständen nach kurzer Zeit in der Nähe des abgerundeten Makrogametocyten eine lebhafte Bewegung auf, und die männliche Form bildet sehr bewegliche Mikrogameten aus — die Zelle beginnt soeben zu geißeln.

Die Geißelung wurde am besten 4 Minuten nach der Blutentnahme beobachtet; in den Parasiten befand sich das Pigment in starker Brownscher Molekularbewegung und sammelte sich zu einzelnen Haufen an. An der Peripherie tauchten zarte Protuberanzen auf, die rasch zu den bekannten Geißeln ausgewachsen sind (Fig. 12, 13). In der Nähe jeder „Geißel“ bewegte sich im Innern des Protoplasmas ein Pigmenthaufen. Dieselben Verhältnisse kann man in den mit Osmiumdämpfen fixierten, mit Giemsas Eosinazur gefärbten Präparaten beobachten (Fig. 14).

Nach 10 Minuten hört die Geißelung auf, und später verschwinden auch die abgelösten Mikrogameten (Geißelfäden).

Was nun die Verteilung der Parasiten im Tierkörper anbetrifft, so fanden wir junge Formen in der Leber, seltener in der Niere, freie Formen wurden auch in der Lunge und Leber beobachtet. In der Leber, wie auch in der Milz finden wir große Pigmentansammlungen, die wahrscheinlich aus der Zerstörung der roten Blutkörperchen entstanden sind.

In Ausstrichen aus dem Gehirn haben wir kleinere und größere Formen des Parasiten beobachtet, während in dem Knochenmark und in Darmausstrichen der Parasit nicht zu finden war.

Unsere Hauptaufgabe war, die Art der Vermehrung des Parasiten im Vogelkörper festzustellen. Zunächst suchten wir, geleitet von den Halteridienuntersuchungen von Schaudinn, nach freien Trypanosoma-Formen, die die Vermehrung des Parasiten übernehmen würden. Wir waren aber nie in der Lage, einen nur annähernd trypanosomaähnlichen Parasiten zu finden. Es wurden auch Blutkulturen auf Blutagar angelegt mit gleichfalls negativem Resultat.

Das einzige, was wir feststellen konnten, ist, daß der Parasit in dem Innern des roten Blutkörperchens erhalten bleibt, nach 5 oder 6 Tagen zeigte er bereits Anzeichen einer Degeneration und wurde kleiner; das Protoplasma vakuolisierte, und schließlich zerfloß der Parasit.

Bei unseren weiteren Untersuchungen gelang es uns, schließlich drei Arten von Vermehrung zu finden, und zwar 2 Arten von Schizogonie des unpigmentierten Parasiten in großen mononukleären Zellen vorwiegend in der Milz, seltener in der Leber. Daneben können sich die pigmenthaltigen Makrogameten vermutlich im Anschluß an eine Parthenogenese ebenfalls mehrfach aufteilen.

Die Parasiten, die in den Zellen in pigmentlosem Zustand auf vegetative Weise sich vermehren, besitzen zwei Protoplasmentypen, und zwar ein lichtblau sich färbendes Protoplasma und ein intensiv färbbares Plasma, das vielfach von ganz scharf umschriebenen Vakuolen durchsetzt ist. Nach Analogie des übrigen Blutparasiten kann man in unserem Falle wohl von einer Schizogonie des weiblichen und männlichen Typus sprechen und muß demnach eine primäre sexuelle Differenzierung annehmen, wie sie bei Cyklospora, Halteridium, Hämogregarinen u. a. vorkommt.

Von der Schizogonie erster Art wurden zuerst in Milzausstrichen in den Leukocyten in einer Delle des Kernes die blaß färbbaren Parasiten beobachtet (Fig. 15 u. 16), die sich dann zu den kleineren Schizonten in weiterer Aufeinanderfolge (Fig. 16—22) heraufbilden. Neben dem Kern sind öfters kleinere rotgefärbte Granulationen beobachtet worden (Fig. 17, 20, 22). In Fig. 16, 20 u. 22 ist der Kern auf dem Stadium der Kernteilung, in Fig. 21 ist er typisch trilobulär.

Die Schizogonie der zweiten Art, die infolge des dunkel färbbaren Protoplasmas den Stempel der Makrogametencharaktere aufgeprägt besitzt, wurde sowohl intra- als extracellulär gefunden. Im letzteren Falle muß es allerdings unentschieden bleiben, ob infolge der Ausstrichmethode die großen Formen nicht hinausgerissen worden sind. Das jüngste intracelluläre, pigmentlose Stadium, das noch von einer Vakuole umgeben war, wurde in Fig. 23 abgebildet. Weitere Stadien der fortschreitenden Teilung sind in Fig. 24 dargestellt. Freie Formen zeigen die Fig. 25 bis 28. Die Form aus Fig. 26 scheint auf einem Stadium der Kernteilung zu stehen.

Die jüngste aus dieser Schizogonie gefundene freie Form entstammt einem Leberausstrich und besitzt neben dem dunklen Kern ein blepharoplastartiges Granulum (Fig. 29). Ein ähnliches Stadium wurde auch im Blutkörperchen gefunden (Fig. 30), und wir müssen annehmen, daß die aus der Schizogonie hervorgegangenen Formen auf diese Weise in die Blutkörper eindringen.

Neben dieser vegetativen Schizogonie kommt eine schizogonische Vermehrung der pigmenthaltigen Makrogameten wahrscheinlich im Anschluß an eine Parthenogenese vor (Fig. 31—34). In Fig. 31 ist das erste Stadium abgebildet; die blaßrosa gefärbten Massen stellen vermutlich die reduzierten Kernteile vor. Die Vermehrung der Gameten findet in der Milz statt. — In dem hier geschilderten Falle verschwindet die scharfe Grenze zwischen dem vegetativen und generativen Entwickelungskreis, insofern als beide Kreise mit vegetativen Vermehrungsstadien ausgestattet sind. Ich möchte noch bemerken, daß die zuerst geschilderten Schizogonien nur in wenigen frisch gekauften Vögeln gefunden worden sind.

Die meisten Vögel, mit denen wir gearbeitet haben, waren infiziert, nur wenige waren frei von Parasiten, andere zeigten eine leichte Infektion.

Im allgemeinen besitzen die Vögel eine große Anzahl von Parasiten.

Die Untersuchungen von Casagrandi und Barbagallo über einen positiven Ausfall der künstlichen Infektion sind von uns wiederholt worden. Wir haben einem leicht infizierten Vogel $^1/_2$ ccm des Herzblutes eines stark infizierten Vogels eingespritzt. Daraufhin hat sich eine „Superinfektion“ in dem eingespritzten Vogel gezeigt; allerdings kann man durch den Versuch den Einwand eines Rezidivs nicht ganz entkräften.

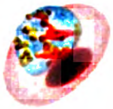
Nach der Einspritzung wurde der Vogel krank. Am 6. Tage war er sehr matt, und man konnte bei jeder Blutentnahme ein Abnehmen der roten Farbe des Blutes und eine starke Leukocytose feststellen. Am 8. Tage nach der Einspritzung starb der Vogel. Bei der Untersuchung wurde eine Splenomegalie und Hepatomegalie beobachtet. Milz und Leber sind doppelt so groß geworden. Sowohl in dem Innern dieser Organe, als auch in dem Knochenmark war eine große Menge Pigment zu finden.

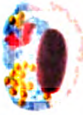
Zum Schluß sei erwähnt, daß die Parasiten mit Neutralrot im Gegensatz zu den roten Blutkörperchen und Leukocyten nicht färbbar sind. Durch $^1/_2$ Proz. Saponin in 7-proz. Chlornatriumlösung kann man den Parasiten von den roten Blutkörperchen trennen; das Protoplasma löst sich auf, wobei der Kern mit dem Pigment erhalten bleibt.

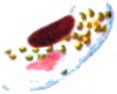
Uebertragungsversuche mit Stegomyia und Culex haben wir mehrfach versucht, in einem Falle konnten wir auch Ookineten beobachten, aber sonst keine weiteren Befunde erheben.

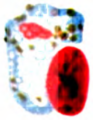
In einem Milzausstrich wurden einige Mikrofilarien gesehen (Fig. 35). Sie waren leider nicht entsprechend fixiert, und wir konnten an ihnen keine weiteren Details, als abgebildet worden ist, feststellen.

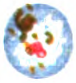
Centralblatt f. Bakteriologie. Abt. I. Bd. 51. Anschütz, Haemoproteus orizivorae nov. spez. *Taf. I.*

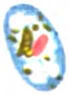

1.

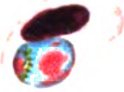

2.

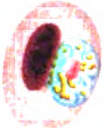

3.

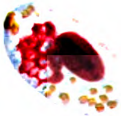

4.

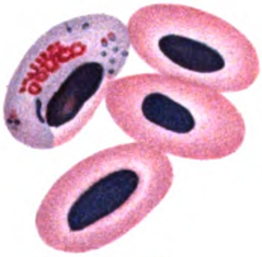

5.

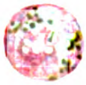

6.

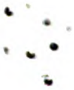

7.

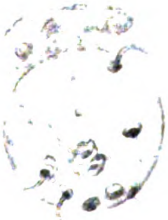

8.

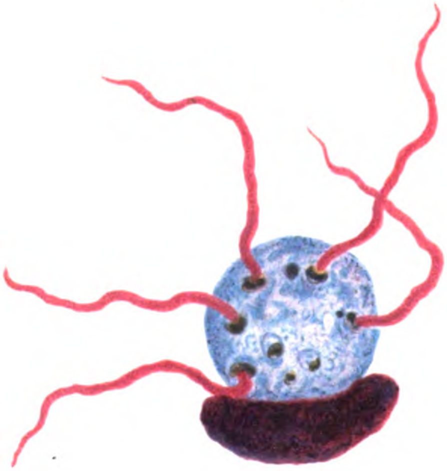

9.

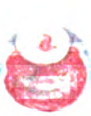

10.

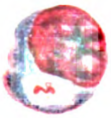

11.

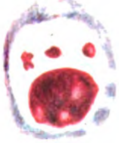

12.

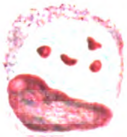

13.


14.

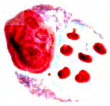

15


16.

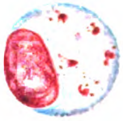

17.


18.

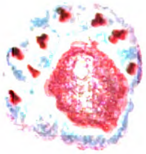
Verlag v. Gustav Fischer in Jena



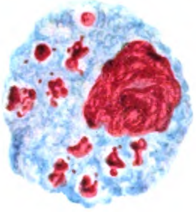
19.



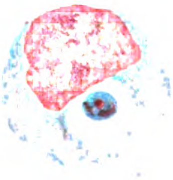
20.



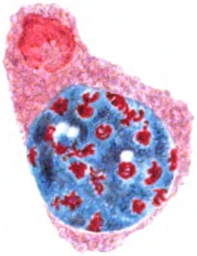
21.



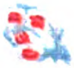
22.



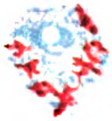
23.



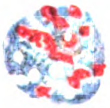
24.



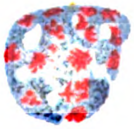
25.



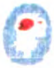
26.



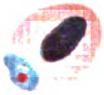
27.



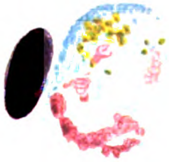
28.



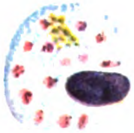
29.



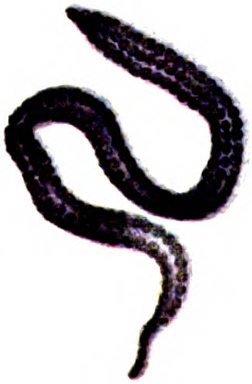
30.

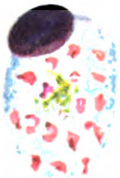


31.

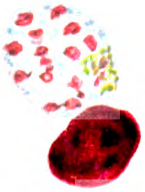


32.





33.



34.

35.

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Lith. Anst. v. F. A. Funke, Leipzig

Zum Schluß möchte ich nicht verfehlen, Herrn Medizinalrat Prof. Dr. Nocht für die Güte zu danken, welche mir die Möglichkeit verschaffte, in dem von ihm geleiteten Institute als Schüler meinen Studien über dieses Thema obzuliegen, auf welches aufmerksam zu machen Herr Dr. Prowazek die Liebenswürdigkeit hatte, und bei denen ich wirksam von Herrn Dr. Gonder unterstützt wurde. Es gereicht mir zur besonderen Freude, auch diesen Herren meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Tafelerklärung.

Haemoproteus oryzivorae.

Fig. 1 u. 2. Makrogameten. Homog. Immers. $^1/_{12}$, Okul. 4.

Fig. 3 u. 4. Frei werdende Makrogameten, denen der Kern des roten Blutkörperchens anliegt. Vergr. ebenso.

Fig. 5. Freier Makrogamet aus dem Herzblut eines verendeten Vogels. Vergr. wie oben.

Fig. 6. Dgl., oval. Vergr. wie oben.

Fig. 7. Austretender Makrogamet mit einem blepharoblastartigen Einschluß. Vergr. wie oben.

Fig. 8—10. Verschiedene Stadien der Mikrogameten. Vergr. wie oben.

Fig. 10. Nicht in der Höhe des Objekttisches gezeichnet.

Fig. 11. Mikrogamet vor der Geißelung. Vergr. wie oben.

Fig. 12 u. 13. Geißelung eines Mikrogameten nach nativem Präparat, ohne Zeichenapparat gezeichnet. Homog. Immers. $^1/_{12}$, Okul. 8.

Fig. 14. Dasselbe mit Osmiumdämpfen fixiert.

Fig. 15—22. Vegetative Vermehrung, Schizogonie vom männlichen Typus aus der Milz mit Ausnahme von Fig. 20 (Leberausstrich). Vergr. homog. Immers. $^1/_{12}$, Okul. 4.

Fig. 23—28. Intracelluläre und extracelluläre Schizogonieformen vom weiblichen Typus. Milzausstriche mit Ausnahme von Fig. 23 (Leber). Vergr. dieselbe.

Fig. 29. Jüngstes Stadium aus der Schizogonie. Leberausstrich.

Fig. 30. Dasselbe Stadium an Blutkörperchen.

Fig. 31—34. Makrogametenschizogonie. Vergr. 1000, Okul. 8, homog. Immers. $^1/_{12}$.

Nachdruck verboten.

Le Simulium columbaczense de Roumanie.

Par le Dr. **N. Leon,** Professeur à l'Université de Jassy.

Avec 11 figures.

Le Simulium columbaczense est connu chez nous dans le peuple sous le nom de Musca rea (mouche mauvaise) et Musca veninoasa (mouche vénimeuse). Il se trouve dans les districts suivants: Mehedintzi, Gorj, une partie du Dolj et Ramnic-Valcea. Les communes les plus infestées sont celles qui sont les plus rapprochées du Danube.

L'étendue géographique infestée chez nous par cet insecte est évaluée approximativement à 2—3000 kilomètres.

Les animaux les plus exposés sont en premier lieu les buffles et ensuite les bœufs et les vaches; les porcs, les moutons et les chiens le sont moins. Il y a eu des cas où l'homme même est tombé victime de leurs piqûres surtout les enfants. Dans tous les cas ces insectes sont très incommodes pour les hommes quand ils apparaissent en noirs essaims traversant la campagne; ils entrent dans les yeux ou, entraînés par l'air insufflé, ils pénètrent dans les fosses nasales et dans la bouche.

L'imagination du peuple qui ne sait comment et d'où apparaissent ces petites mouches si nuisibles a donné sur leur compte naissance à différentes légendes. Nous en mentionnerons une comme curiosité:

Un roi avait un garçon et trois filles. Le jeune homme va un jour à la chasse et les jeunes filles pendant ce temps là passent le Danube mis à sec se servant pour cela des écueiles des Portes-de-fer et remontent la rivière de Cerna. Arrivées à un endroit où l'eau est limpide elles s'y mirent et les aînées, s'apercevant que la plus petite est la plus jolie, se décident à la perdre. Elles l'abandonnent pendant son sommeil et veulent repasser le Danube et se noient.

Leur frère va à leur recherche et ne retrouve que sa cadette qui était tombée au pouvoir d'un énorme dragon.

Une lutte s'engage entre le jeune prince et le dragon qui est bientôt mis en pièces. Mais la tête du dragon avec une partie du corps qui y était restée attachée descend la Cerna, entre dans le Danube, le remonte jusqu'à Columbaria, grimpe dans la montagne et va se cacher dans une grotte.

C'est de la tête du dragon entrée en putréfaction qu'est sortie la mouche vénimeuse qui apparait régulièrement au printemps (4).

Le poète roumain Bolentineano parle lui aussi de ces insectes dans les termes suivants:

Tels on voit sur la mer que la brise caresse
Des rayons mêlés aux rayons
Que la lune répand, étincelant sans cesse.
Un dragon sort alors de ces riants vallons

. . . .

Depuis, quand les troupeaux passent dans la vallée
De la grotte la mouche sort,
Bourdonne et blesse à mort la bande mutilée

. . . .

Les symptômes que l'on observe aux animaux piqués par le Simulium columbaczensis varient, nous dit le médecin vétérinaire Nicolae Moga (5) d'après le nombre des piqûres, la force de résistance, l'âge, l'espèce et le sexe.

Quand le nombre de ces piqûres est petit on observe une vive agitation, un manque d'appétit et des mugissements, toutes choses qui dénotent la souffrance.

Il arrive quand elles sont piquées, que les femelles pleines avortent ou mettent bas prématurément. Chez celles qui allaitent, cette fonction peut s'arrêter, et chez celles que l'on garde pour l'engraissement on remarque un affaiblissement prononcé et les animaux de traits deviennent incapables de continuer leur service. Chaque piqûre est suivie d'une démangeaison brûlante et douloureuse qui donne naissance à une petite tumeur qui ne disparaît qu'après 8 ou 10 jours.

Les endroits dans lesquelles on observe le plus souvent ces piqûres et en plus grand nombre sont les parties peu poilues, la bouche, le nez, les yeux, les oreilles, la région des organes génitaux, les mamelles et l'abdomen.

Ces insectes pénètrent souvent dans les cavités nasales provoquant l'inflammation de cette muqueuse et consécutivement la dyspnée quand l'inflammation est partielle, l'asphyxie et la mort quand l'inflammation occupe toute la surface de cette muqueuse.

Certains auteurs prétendent que l'asphyxie des animaux est provoquée d'une manière mécanique par l'engorgement des cavités nasales par ces insectes. D'autres disent qu'ils pénètrent même jusqu'à la trachée. C'est une simple assertion; M. Moga dit qu'il n'a jamais rien observé de semblable.

De chaque tumeur, conséquence de la piqûre, il se produit quelques heures après un écoulement jaune-vert.

Si le nombre des piqûres est grand, continue M. Moga, des symptômes alarmants se déclarent dont le dénouement est toujours la mort. Quand le nombre des piqûres est petit, l'état général de l'animal n'est pas menaçant et l'état de santé revient après quelques jours.

Au commencement l'animal est abattu et paraît fatigué, manque complètement d'appétit, ne rumine plus, a la tête et les oreilles pendantes, les yeux d'abord injectés et quelques heures après alanguis et sans expression, le poil hérissé; il tremble de tous ses membres et a des convulsions partielles; la défécation est retardée et l'animal est impropre au service; il marche en vacillant et tout son extérieur dénote la souffrance. Au commencement les muqueuses sont injectées, plus tard elles deviennent pâles tout en conservant aux endroits où la piqûre a eu lieu tous les symptômes de l'inflammation.

Le pouls est plein et accéléré au commencement et un état febrile intense se déclare; plus tard le pouls devient faible et filiforme, rare et quelquefois intermittent. Les battements du cœur, d'abord forts et détonnants, deviennent plus tard irréguliers et à peine appréciables.

Ce cortège de symptômes ne s'observe que quand le nombre des piqûres est très grand et dans ce cas la mort est sûre si un traitement rationnel n'est pas appliqué dans le délai le plus court. La mort apparaît quelques heures après que se sont déclarés ces symptômes alarmants.

Chez l'homme ces cas sont rares et les symptômes peu alarmants à cause des habits qui recouvrent le corps. On a cependant remarqué des cas assez remarquables. En dehors des cas connus cités par Schönbauer, Moga cite un cas qui lui a été communiqué par le Dr. Frangulea. Pendant l'été de 1888 un soldat de la réserve appelé pour 50 jours, pour faire son stage, a été piqué à la paupière supérieure de l'œil gauche, le 19 avril, à 4 heure de l'après-midi. Pas plus tard que jusqu'au lendemain il s'y fit un œdème si grand qu'il lui fut impossible d'ouvrir l'œil. On lui applique la cure antiphlogistique avec compresses et substances astringentes. L'œdème disparut complètement en 4 jours, mais le globe oculaire a été atteint de gangrène sèche par suite de la pression et de l'étranglement des vases par l'œdème déjà formé. La gangrène du globe oculaire disparut par l'application d'une solution concentrée de nitrate d'argent 4 %, mais la vue fut complètement perdue et le soldat réformé.

Beaucoup d'officiers ont souffert de ces piqûres au printemps de la même année, mais il n'y eut heureusement pas de cas mortels.

Par rapport aux causes qui determinent la mort des animaux piqués par cet insecte il y a plusieurs hypothèses:

Schönbauer en 1795, d'après la citation de R. Blanchard (2) attribue la mort soit à une inflammation soit à une oblitération des voies respiratoires.

Tőmősvary (7) a émis les trois opinions suivantes:

1) Le grand nombre des insectes qui s'abattent sur l'animal, lui sucent une si grande quantité de sang qu'ils provoquent l'anémie.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

2) L'animal ayant été piqué simultanément en de nombreuses parties du corps, il se produit une excitation nerveuse reflexe qui le tue.

3) Le sang de l'animal est empoisonné par la salive de l'insecte.

La conformation de l'appareil buccal nous fait incliner pour cette dernière opinion et nous croyons qu'elle seule suffit.

Ce qui nous a déterminé à écrire cet article c'est que nous avons observé que l'appareil suceur de ces insectes est pourvu d'une espèce de pompe constituée de même façon que celle des culicides (3) et avec laquelle ils injectent leur salive dans le sang des animaux. Nous ne savons pas si la salive agit comme un simple venin ou si elle contient une espèce de sporozoaires. C'est pourqoi il foudra que l'été prochain nous examinions le sang des animaux piqués et l'insecte en vie, parce que les insectes étudiés et décrits dans cet article par rapport à leur appareil buccal avaient été conservés dans l'alcool.

Dans le travail de Smith (6) sur les parties de la bouche chez certains insectes nous trouvons aussi la description de l'appareil buccal du genre Simulium mais l'interprétation n'en concorde pas avec la nôtre. L'auteur considère les dents noires du labre marquées des lettres ***md*** sur la figure 1^d, planche I, de son travail comme des mandibules, tandis que les mandibules ne sont que des lamelles cornées les plus délicates et transparentes de l'appareil buccal et avec de petits dents clair dans leur partie supérieure. L'explication de la même figure est la suivante: «1^d, labrum and labium of Simulium from Aldrich.» Malgré cela dans la figure il n'y a pas de labium mais seulement un labre + épipharynx et l'hypopharynx. La figure 2^a de la même planche est expliquée par l'auteur de la manière suivante: «the maxillary structures in their actual relation to each other».

Dans la figure au contraire à côté de la maxille avec son palpe il y a encore une mandibule et le labium. Ce qui est désigné par les lettres *sg* (subgalea) c'est le sous menton, avec *gal* (galea) il y a le menton, et les parties terminales non marquées de lettres sont les labelles (l'olive des culicides).

L'interprétation donnée par Becher (1) du genre Simulium reptans concorde parfaitement avec la morphologie de la bouche du Simulium columbaczensis, comme nous avons réussi à la désarticuler et à photographier chacune des parties qui la constituent. Les Simulium columbaczensis que nous avons examinés étaient seulement des femelles. Leur corps est long de 2,5 à 3 mm sans compter les antennes.

Le corps se compose de la tête, du thorax et de l'abdomen.

La tête (fig. 1) est petite, comprimée dorso-ventral et réunie au thorax par un cou court.

Elle porte deux yeux (fig. 1 *O*) énormes à facettes, une trompe (fig. 1 *T*), deux palpes (fig. 1 *P*) et deux antennes (fig. 1 *A*). Les occelles sont absentes. Les antennes (fig. 2) sont cylindriques, de onze courts articles (fig. 2 *1—11*); l'article terminal est un peu plus mince que les autres et plus long; il est pourvu à son extrémité de deux ou trois poils (fig. 2 *p*).

Les ailes (fig. 3) sont transparentes, plus longues que l'abdomen, leur nervation est peu distincte, excepté les trois premières nervures (fig. 3 *I, II, III*) qui bien que d'une couleur foncée sont ornées de très petits tubercules pointus de couleur noire. Les haltères sont situés derrière les ailes; ce sont deux petits organs pedonculés. Les pieds

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

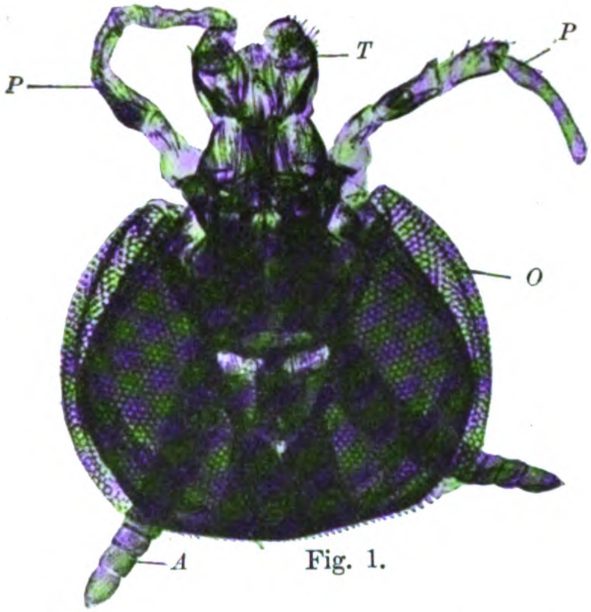


Fig. 1.

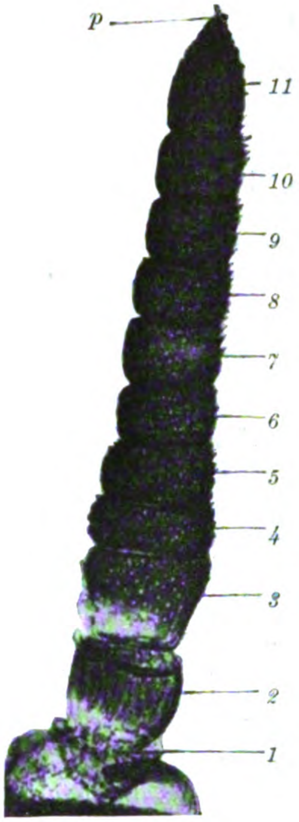


Fig. 2.

Fig. 1. Tête. *A* antennes; *O* œil; *P* palpes; *T* trompe.

Fig. 2. Antenne. *1—11* les segments; *p* les poils terminales.

Fig. 3. Aile de Simulium. *I—III* les trois premiers nervures foncées.

Fig. 4. Patte de la troisième paire. *h* hanche; *tr* trochanter; *f* fémur; *ti* tibia; *ta* tarse formé de cinq articles; *1—5* différents articles du tarse.

Fig. 5. Appareil unguéal de la patte antérieure.

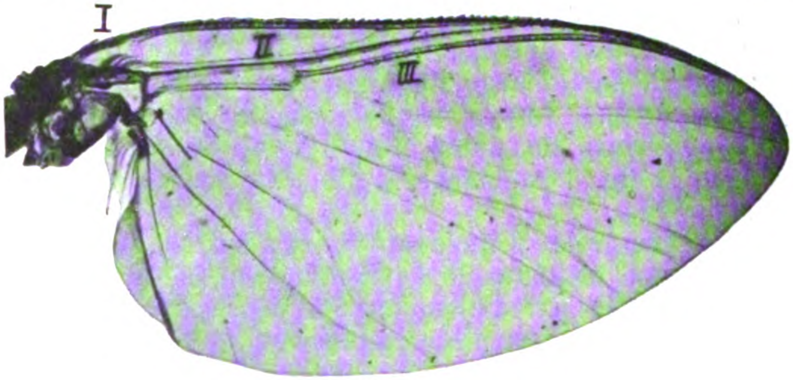


Fig. 3.

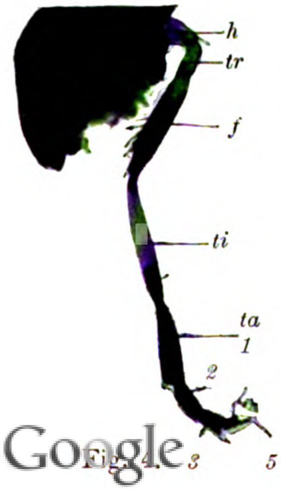


Fig. 4.

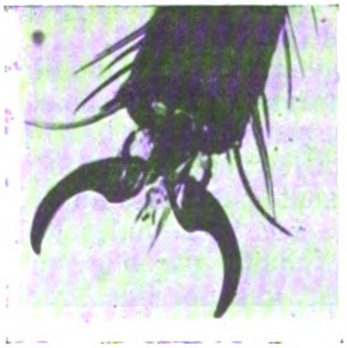


Fig. 5.

(fig. 4) sont relativement courts, recouverts de poil et constitués de neuf parties: la **hanche** (*h*) fixée au thorax; le **trochanter** (*tr*) un peu plus petit que le précédent; la **cuisse ou fémur** (*f*), la partie la plus longue et la plus grosse; le **tibia** (*ti*) long lui aussi mais plus mince que le précédent présente deux éperons aiguisés; le **tarse** (*ta*), constitué de cinq articles: le premier le plus long (*ta, 1*), à peu près aussi long que les quatre autres ensemble qui viennent ensuite. Le dernier article tarsal est terminé par deux **ongles** (fig. 5) aigues incurvées et avec une pièce impaire entre elles.

L'abdomen est composé de 7 à 8 anneaux de couleur marron clair, la partie terminale de couleur noire, et est couvert de poil. Quand l'insecte a sucé du sang il devient de couleur rouge.

A cause de sa transparence on voit un réservoir seminal sphérique logé dans le dernier segment.

L'appareil buccal (fig. 1 *T*) est composé d'une gaîne, une espèce de gouttière épaisse et comprimée dorso-ventral présentant à sa surface une enveloppe de poil. La gaîne est homologue au labium des autres insectes. Elle est recouverte à la partie supérieure par le **labre** et abrite à l'intérieur les autres parties buccales (styletes) avec lesquelles l'insecte perce la peau et aspire le sang.

Le **labium** (fig. 1 *T* et fig. 6) se compose à la base d'un **submentum** (fig. 6 *Sm*) double, ensuite d'un **mentum** double (fig. 6 *m*) et à son extrémité libre de deux lobes latérales ou **labelles** (labellae) (fig. 6 *Ol*) capables de s'écarter ou de se rapprocher grâce aux muscles contenus dans chacun d'eux. Ces lobes correspondent à l'olive des culicides. Elles sont couvertes de poils durs que l'insecte enfonce dans la peau de l'animal au moment de la succion.

Il y a encore un lobe moyen, la **ligule** (fig. 6 *Lig*).

Le labre (fig. 7) est une lame cornée impaire de forme à peu près triangulaire; par sa partie large elle s'articule avec la tête et par sa partie atténuée elle est dirigée vers la partie terminale du labium. Il porte à son extrémité une paire de dents noires dentées eux-même (fig. 7 *D*). [Désignées dans la fig. 1^d, planche I, du travail de **Smith** (6) comme mandibules].

Sur sa face ventrale il présente une gouttière (fig. 7 *Cf*) qui se continue sur la ligne médiane de l'extrémité terminale jusqu'au pharynx. Cette gouttière fermée par l'hypopharynx devient un tube par lequel l'insecte aspire le sang. Les pièces situées dans l'intérieur de la gaîne sont les suivantes:

1) **L'hypopharynx** (fig. 8) est lui aussi une lamelle cornée, impaire, lancéolée, aiguisée à l'extrémité; c'est l'organe qui fait la première coupure dans la peau; il est percé dans sa longueur sur la ligne médiane par un canal qui se trouve en communication avec l'appareil salivaire. On voit ce canal ou sur l'hypopharynx isolé (fig. 8 *Cs*) ou dans la section transversale (fig. 11 II *Cs*).

L'hypopharynx s'applique directement sur le labre fermant sa gouttière et la transformant en un canal.

2) Une paire de **mandibules** (fig. 9), lamelles cornées fines, minces situées sous l'hypopharynx.

Elles sont pourvues de très petites dents aiguisées à leur partie supérieure. Les mandibules grâces à leurs muscles latéraux largissent l'incision produite par l'hypopharynx et font entrer le labrum aussi profondément que possible avec leurs dents dans la plaie.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

3) Une paire de maxilles (fig. 10), lamelles plus étroites que les mandibules et beaucoup plus aiguisées à la pointe; elles présentent à leur partie supérieure une sorte de dents pointues avec l'extrémité retournée vers leur partie postérieure. Elles sont placées latéralement sous les mandibules. A leur base sont annexées des palpes maxillaires

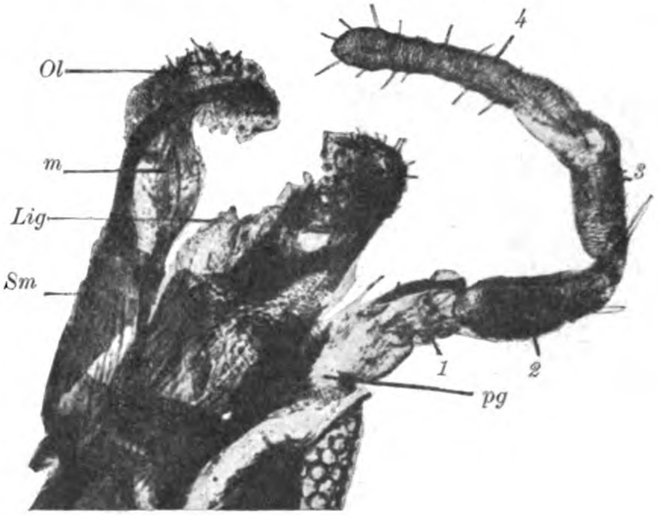


Fig. 6.

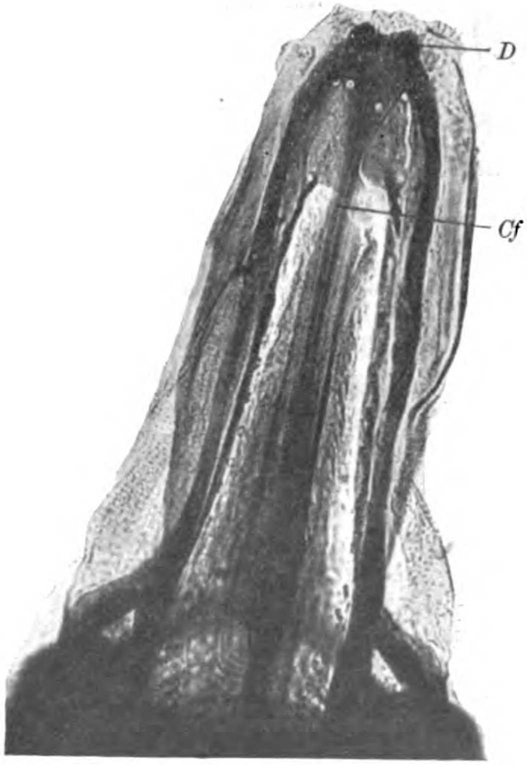


Fig. 7.

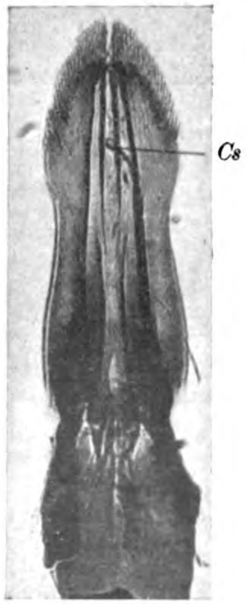


Fig. 8.

Fig. 6. Labium avec le palpe maxillaire. *Sm* le submentum; *m* le mentum; *Ol* labelle; *Lig* la ligule; *pg* le palpiger; *1, 2, 3, 4* les articles du palpe maxillaire.
Fig. 7. Labre + épipharynx isolée. *D* les dents du labre; *Cf* canal du labre.
Fig. 8. L'hypopharynx isolée. *Cs* son canal.

(fig. 10 *p*) qui sont au nombre de deux, une de chaque côté de la trompe (fig. 1 *P*). Elles semblent placées chacune sur un palpiger (squama).

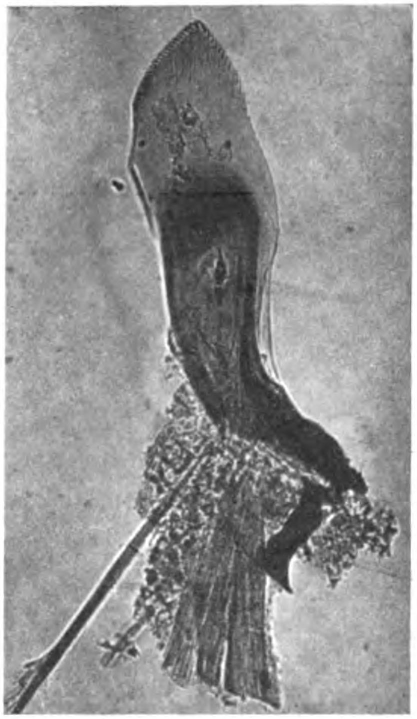


Fig. 9.

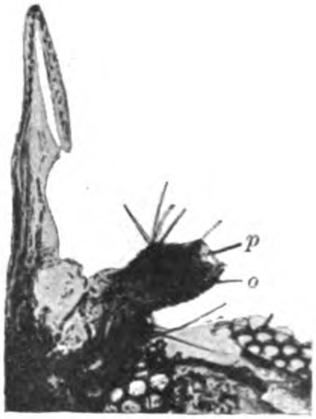


Fig. 10.

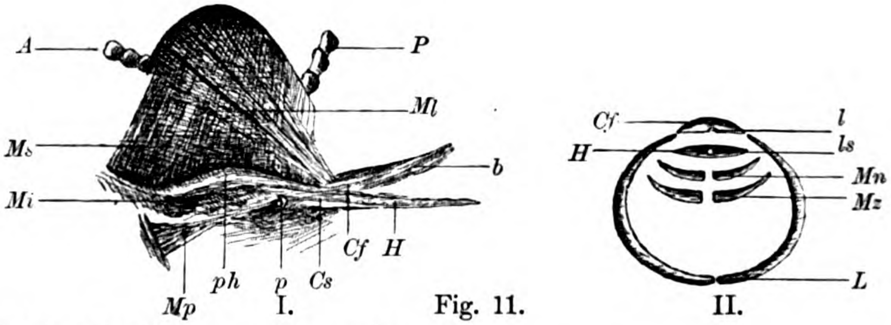


Fig. 11.

Fig. 9. Mandible avec ses muscles.
Fig. 10. Maxille avec une partie de son palpe (*p*). *o* œil.
Fig. 11. Schéma des pièces buccales en section.
I. Section longitudinale à travers la tête.

A antenne; *P* palpe maxillaire; *l* labre + épipharynx; *H* hypopharynx; *ph* pharynx; *Ms* muscles supérieurs du pharynx; *Mi* muscles inférieurs du pharynx; *Ml* muscle du labre; *Mp* muscle du piston; *p* piston; *cp* chambre salivaire; *Cs* canal du hypopharynx; *Cf* canal du labre + épipharynx.

II. Section transversale à travers la tête.

l labre + épipharynx; *L* labium; *H* hypopharynx; *Mn* mandibles; *Mx* maxilles; *Cs* canal du hypopharynx; *Cf* canal du labre + épipharynx.

Les palpes maxillaires sont formées de quatre articles de plus au plus longs de la base à l'extrémité. Le quatrième article est le plus long et plus mince que tous les autres.

Pour comprendre les rapports qui existent entre les différentes parties constituantes de la bouche nous suivrons une section transversale qui passe par la partie de base de la trompe (fig. 11 II). Les arcs doubles externes (*L*) représentent le labium, le petit arc supérieur (*l*), le labre + épipharynx, et la petite dentelure (*Cf*) de sur la face inférieure de cet organe est le canal qui se continue dans le pharynx et par lequel passe le sang absorbé. La petite ligne (*H*) d'immédiatement dessous le labrum + épipharynx représente l'hypopharynx et l'orifice de son milieu le canal salivaire (*Cs*).

Les lignes de dessous l'hypopharynx sont les mandibules (*Mn*) et les lignes (*Mx*) sont les maxilles.

Dans la section longitudinale (fig. 11 I) on voit les muscles (*Ml*) du labrum + épipharynx qui sont les plus développés, et par leur partie étroite s'insèrent à la base du labrum et par leur partie étendue sur leur face interne et postérieure de la tête.

Un groupe de muscles supérieurs (*Ms*) du pharynx s'insèrent par leur partie étendue sur la face supérieure et externe du pharynx et par leur partie mince sur la paroi frontale interne de la tête.

Il existe encore deux groupes de muscles inférieures (*Mi*) du pharynx qui s'insèrent par un bout d'un côté et de l'autre du pharynx plus ventral et de l'autre bout sur la face ventrale de la tête. Le point de l'insertion ne peut être fixé exactement.

Dessous le pharynx on observe une chambre chitineuse (fig. 11 I *p*), une espèce de corps de pompe semblable à celui que nous avons décrit chez les culicides (3). De sa partie antérieure part le canal salivaire (fig. 11 I *Cs*), tout à fait fin et que l'on peut suivre le long de l'hypopharynx. Dans la partie postérieure du corps de pompe on observe un piston corné avec un muscle (fig. 11 I *Mp*) qui se fixe sur la partie postérieure et ventrale de la tête.

Quand l'insecte veut se nourrir il approche sa trompe choisissant un endroit où la peau est fort mince, un point où les stylettes pourront s'enfoncer plus facilement dans un vase sanguin.

Le labium ne pénètre pas dans la plaie mais s'appuie avec ses labelles sur la peau s'y fixant à l'aide des nombreux poils qui se trouvent à leur surface, le labium sert seulement à diriger les stylettes.

La pointe du labium une fois fixée à la surface de la peau, l'insecte enfonce les stylettes qui constituent un fin trocart, dans la peau et produisent une plaie.

En ce moment le muscle du piston (fig. 11 I *Mp*) se contracte, la chambre du corps de pompe se remplit de salive, le muscle passe de nouveau à l'état de repos, le piston avance et pousse la salive par le canal de l'hypopharynx (*Cs*) dans la plaie. Cette salive a probablement la propriété d'anésthésier la peau et de rendre en même temps le sang plus fluide facilitant sa digestion ultérieure.

Aussitôt que les stylettes ont pénétré dans un vase sanguin, les muscles supérieurs antérieurs du pharynx entrent en contraction. La partie du pharynx qui y correspond s'élargit et le sang de la plaie y arrive par le canal produit par le labrum + épipharynx formé par l'hypopharynx. Immédiatement a lieu la contraction de muscles supérieurs postérieurs pharyngials tandis que les muscles antérieurs passent à l'état de repos aspirant ainsi tout le sang que le tube digestif peut recevoir.

L'insecte, après s'être nourri, laisse dans la plaie une goutte de venin. La manière de travailler de ce venin n'est pas encore connue.

Index bibliographique.

1) Becher, Eduard, Zur Kenntnis der Mundteile der Dipteren. Wien 1882.
2) Blanchard, Raphael, Les moustiques, histoire naturelle et médicale. Paris 1905.
3) Leon, N., Vorläufige Mitteilung über den Saugrüssel der Anopheliden. (Zoolog. Anzeiger. Bd. 27. 1904.)
4) Marian, Sim. Fl., Insectele. Studiu folkloristic. (Bucuresci Editiunea Academiei romane 1903.)
5) Moga, Nicolae, Musca columbaca. Bucuresci 1890.
6) Smith, John B., An essay on the development of the mouth parts of certain insects. (Read before the Amer. Philosoph. Soc. Vol. 19. 1896. Febr. 21.)
7) Tőmősvary, Edmund, Die Kolumbaczer Mücke. Ung.-Weißkirchen (Theobald Hepke).

Nachdruck verboten.

Veränderungen der Bakterien im Tierkörper.

VI. Ueber die Phagocytoseresistenz animalisierter Milzbrandbacillen.

[Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität Prag
(Vorstand: Prof. Hueppe).]

Von Dr. **K. Nunokawa**, Japan.

Die interessanteste Eigenschaft der animalisierten, mit Kapsel versehenen und auch durch sonstige morphologische Charaktere ausgezeichneten Milzbrandbacillen, welche sich im Reagensglasversuch studieren läßt, ist ihre beinahe absolute Resistenz gegen die Phagocytose (Deutsch, Löhlein, Gruber und Futaki, Bail u. a.). Nachdem durch Toyosumi in seither im Institute wiederholten Versuchen nachgewiesen wurde, daß die tierischen Milzbrandbacillen im Reagensglasversuch weder den Säften, noch den Zellen des Tierkörpers gegenüber sich irgend resistenter verhalten als Kulturbacillen, bleibt die Phagocytoseresistenz ziemlich das einzige, was zur Erklärung einer besonderen Infektionstüchtigkeit der Bacillen an sich herangezogen werden kann. Freilich wird auch dieses Verhalten in seinem Werte sehr herabgemindert durch die Versuche von Weil, welcher feststellen konnte, daß Leukocyten auch ohne Phagocytose sehr beträchtliche aphagozide Wirkungen auf animalisierten Milzbrandbacillen ausüben können. Unter Berücksichtigung dieser Befunde erscheint der kapseltragende Bacillus durchaus nicht als ein Lebewesen, das besonders befähigt wäre, den feindlichen Einwirkungen des Tierkörpers Widerstand zu leisten, sondern als eine Form des Bacillus, welcher durch diese Einwirkungen bereits verändert ist, im Sinne einer Krankheit, wie dies Bail schon frühzeitig vermutet hatte[1]).

Damit stimmt sehr gut überein, daß im Körper aller Tiere, der resistenten sowohl wie der empfänglichen, Kapselbacillen auftreten, weil sich auch bei allen Tieren recht wirksame milzbrandfeindliche Agentien in den Zellen oder Säften oder in beiden vereint nachweisen lassen, ferner auch die Erscheinung, daß gegen das Lebensende eines infizierten Tieres, zu einer Zeit also, wo die milzbrandfeindlichen Körperkräfte überwunden sein müssen, eine neue Generation der Bacillen auftritt, denen die Kapselbildung mehr oder weniger vollständig fehlen kann.

---

[1]) Anmerkung zur Korrektur: Vgl. die während des Druckes veröffentlichte Arbeit von Fischoeder, dieses Centralbl. Bd. 51. No. 4.

Was nun die Phagocytoseresistenz betrifft, so hat bereits Löhlein feststellen können, daß diese dem Bacillus selbst zukommt, nicht von den Medien abhängt, in dem er und die Leukocyten sich befinden. Denn auch nach sorfältigem Waschen der animalisierten Bacillen werden dieselben nicht von den Leukocyten aufgenommen.

Es erschien nun von großem Interesse festzustellen, worauf diese Resistenz beruht, zunächst ob dieselbe eine vitale Eigenschaft des Bacillus ist, ob derselbe durch irgendwelche Lebensvorgänge die Leukocyten von sich abhält oder ob sie einfach mit einer veränderten Leibesbeschaffenheit zusammenhängt, die auch nach dem Absterben erhalten bleibt. Die Versuchsanordnung war von selbst gegeben; sie bestand einfach in Verwendung abgetöteter tierischer Bacillen. Als solche wurden stets Bacillen aus der Bauchhöhle intraperitoneal geimpfter kleiner Meerschweinchen gewonnen. Ca. 15 Stunden nach intraperitonealer Injektion von einer Oese oder mehr Agarkultur enthielt die Bauchhöhle solcher Tiere meist einige Kubikzentimeter eines mehr oder weniger dicklichen Exsudates. Dasselbe ist voll von stark kapseltragenden, dicken, typisch animalisierten Bacillen, die meist kurze und mittellange Ketten bilden. Das Exsudat wird von dem frischgetöteten Tiere entnommen und sofort energisch zentrifugiert. Das Zentrifugieren erfolgt sehr leicht und kann zur weitgehenden oder selbst vollständigen Sterilität der obenstehenden Flüssigkeit führen. Der fast ganz aus Bacillen mit relativ wenig beigemischten Zellen bestehende starke Satz wurde mehrmals mit physiologischer Kochsalzlösung auf der Zentrifuge gewaschen, schließlich in 3—4 ccm Kochsalzlösung suspendiert und 1 Stunde auf 60° C erwärmt. Da vorauszusetzen war, daß bei dieser Erhitzung nach Analogie mit anderen Bakterien Leibessubstanz in Lösung geht, also ein Bakterienextrakt entsteht, der den Versuchsausfall möglicherweise beeinflussen kann, so wurden in einem Teil des Experimentes der bacillenhaltige erhitzte Extrakt als solcher mit Leukocyten vermischt, in einem anderen aber der Extrakt abzentrifugiert, die Bakterien gewaschen und schließlich in Kochsalzlösung suspendiert. Es ist zu bemerken, daß die Kapsel bei all diesen Manipulationen erhalten blieb und auch keine auffälligen Veränderungen aufwies. Nur die Färbbarkeit der Bakterien erwies sich vermindert, indem der Bakterienleib bei Färbung mit Karbolmethylenblau blasser und die Kapselsubstanz schwach violett gefärbt erschien.

Versuch I.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Bauchhöhle eines Meerschweinchens.
Meerschweinchenleukocyten.

				Nach 1 Std.	Nach 2 Std.
1.	0,5 ccm 1 Std. auf 60° erhitzter bacillenh. Extrakt	+ M.-Leuk.		keine Phagocytose	ebenso
2.	Ebenso erhitzte, abgew. Bac.	+ „	+ 0,5 NaCl	„ „	„
3.	Lebende tierische Bac.	+ „	+ 0,5 „	„ „	„

Andere Versuche folgen weiter unten im Zusammenhang mit anderen Experimenten und in etwas geänderter Versuchsanordnung. Es stellte sich nämlich bei Heranziehung von Kontrollproben, bei denen gewöhnliche Kulturbacillen der Phagocytose der Leukocyten ausgesetzt wurden, heraus, daß in Kochsalzlösung allein zwar Phagocytose stattfand, aber doch deutlich schwächer, als wenn Leukocyten und Bacillen im Serum suspendiert waren. Um möglichst günstige Phagocytosebedingungen zu schaffen, wurde daher später dieses als Aufschwemmungsflüssigkeit verwendet. Das Hauptresultat änderte sich aber auch dabei nicht: auch dann blieb Phagocytose der abgetöteten Bacillen aus, womit bewiesen war, daß nicht eine vitale Tätigkeit der Bacillen Phagocytose verhindert, sondern daß der Bacillenleib an sich der Phagocytose widersteht. Da Kulturbacillen, aus denen die tierischen entstanden sind, in hohem Grade von Leukocyten aufgenommen wurden, so folgt daraus, daß innerhalb der relativ kurzen Zeit des Aufenthaltes im Tierkörper eine sehr tiefgehende Umwandlung der Bakteriensubstanz erfolgt sein muß.

Die nächste Frage ging sofort dahin, ob es die Ausbildung der Kapsel, der Uebergang eines Teiles der Bakteriensubstanz in Kapselstoff oder die sonstwie erfolgende Ausbildung der letzten sei, welche die Bakterien für Leukocyten so aufnahmeunfähig macht. Zur Beantwortung dieser Frage wurde versucht, die Kapsel zur Auflösung zu bringen, um dann den übrigbleibenden Bacillenrest der phagocytären Leukocytenwirkung auszusetzen. Zur Auflösung der Kapsel wurden Alkalilösungen verwendet, eine Methode, welche auch Preisz angibt. Es stellte sich aber bald heraus, daß das nur schwierig, nicht ganz sicher und nur unter so energischen Eingriffen gelingt, daß dabei nicht nur die Kapsel verschwindet, sondern auch der ganze Bacillus schwer geschädigt wird.

Eine 1-proz. Sodalösung brachte auch nach stundenlanger Einwirkung die Kapseln der in der oben beschriebenen Weise gewonnenen und gewaschenen Bacillen nicht zum Verschwinden. (Präparate mit Karbolmethylenblau gefärbt.)

5-proz. Sodalösung bewirkte nach 2-stündiger Einwirkung bei Zimmertemperatur wohl Verschwinden eines Teiles der Kapsel, doch war ein halbwegs genügendes Resultat auch so nicht zu erhalten. $^1/_{10}$ und $^1/_4$ Normalnatronlauge wirkte entweder gar nicht oder nicht vollständig, erst durch Anwendung von Normalnatronlauge selbst verschwanden die Kapseln. Dabei war allerdings auch der Bacillus selbst stark angegriffen, daß der Bacillenleib oft größtenteils verschwunden und nur feine Pünktchen übriggeblieben waren. Von Interesse war es zu sehen, wie diese Bacillen bei längerem Aufenthalte im Serum wieder einen blassen kapselartigen Saum zeigten. Auch Bacillen aus Bouillon oder Agarkulturen wurden nach derartiger Behandlung stark affiziert; sie stellten sich dann im gefärbten Präparate lediglich als sehr dünne, ganz blasse Stäbchen und Fäden dar, in denen kleine, blau gefärbte Körnchen lagen, und erwiesen sich im Serum als so zur vollständigen Auflösung geneigt, daß sie zum Phagocytoseversuch überhaupt kaum geeignet waren. Die Behandlung mit Lauge wirkt schneller und intensiver, wenn sie bei 40° C durchgeführt wird. Länger als 1—2 Stunden wurden die Bacillen der Lauge nicht ausgesetzt und hernach muß selbstverständlich auf der Zentrifuge eine vollständige Entfernung des Alkalis durch Waschen mit Kochsalzlösung erfolgen.

Versuch II.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Bauchhöhle eines Meerschweinchens.
Meerschweinchenleukocyten.

					Nach 1 Std.	Nach 2 Std.
1.	0,5 ccm 1 Std. auf 60° erhitzter bacillenh. Extrakt	+	Leuk.		keine Phagocytose	ebenso
2.	Ebenso erhitzte, gew. Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
3.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	„
4.	2 Std. mit 5-proz. Sodalösung beh. gew. Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
5.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	„
6.	Lebende tierische Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
7.	Bouillonkulturbacillen	+	„	+ 0,5 „	sehr schwache	schwache
8.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	ziemlich starke	starke

Es ist hierbei zu bemerken, daß die mit Sodalösung behandelten, fast kapsellos gewordenen Bacillen nach 2-stündigen Aufenthalt im Meerschweinchenserum wieder deutlich kapselartige Substanz zum Vorschein brachten, und daß die tierischen, behandelten und nicht behandelten Bacillen oft den Leukocyten eng anliegen.

Versuch III.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Bauchhöhle eines Meerschweinchens. Meerschweinchenleukocyten. Tierische Bacillen wurden teils mit $^1/_4$ Normalnatronlauge, teils mit Normalnatronlauge $1^1/_2$ Stunden bei Zimmertemperatur behandelt. Bei den ersteren waren meist noch schmale Kapseln erhalten, die letzteren wurden fast kapsellos.

					Nach 1 Std.	Nach 2 Std.
1.	0,5 ccm 1 Std. auf 60° erhitzter bacillenh. Extrakt	+	Leuk.		keine Phagocytose	ebenso
2.	Ebenso erhitzte gew. Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
3.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	„
4.	Mit $^1/_4$ Normalnatr. beh. gewaschene Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
5.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	„
6.	Mit Normalnatr. beh. gewaschene Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
7.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	„
8.	Lebende tierische Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
9.	Bouillonkulturbacillen	+	„	+ 0,5 „	sehr schwache	mäßige
10.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	ziemlich starke	starke

Versuch IV.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Bauchhöhle eines Meerschweinchens. Meerschweinchenleukocyten. Tierische Bacillen, welche mit Normalnatronlauge $1^1/_2$ Stunden bei 40° C behandelt waren, wurden kapsellos.

					Nach 1 Std	Nach 2 Std.
1.	0,5 ccm 1 Std. auf 60° erhitzter bacillenh. Extrakt	+	Leuk.		keine Phagocytose	ebenso
2.	Ebenso erhitzte gew. Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
3.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	„
4.	Mit Normalnatr. beh. gewaschene Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	„
5.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	ganz vereinz.
6.	Lebende tierische Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	keine Phag.
7.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	„ „
8.	Bouillonkulturbacillen	+	„	+ 0,5 NaCl	vereinzelte	schwache
9.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	ziemlich starke	starke

Versuch V.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Bauchhöhle eines Meerschweinchens. Die mit Normalnatronlauge bei 40° C 1 Stunde lang behandelten Bacillen wurden kapsellos.

Versuch mit Meerschweinchenleukocyten.

					Nach 1 Std.	Nach 2 Std.
1.	Mit Normalnatr. beh. gewaschene Bac.	+	M.-Leuk.	+ 0,5 NaCl	keine Phagocytose	ebenso
2.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	ganz vereinz.
3.	Lebende tierische Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	keine Phag.
4.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	„ „	„ „
5.	Bouillonkulturbacillen	+	„	+ 0,5 NaCl	sehr schwache	schwache
6.	dgl.	+	„	+ 0,5 M.-S.	ziemlich starke	starke

Versuch mit Kaninchenleukocyten.

					Nach 1 Std.	Nach 2 Std.
1.	Mit Normalnatr. beh. gewaschene Bac.	+	K.-Leuk.	+ 0,5 NaCl	keine Phagocytose	ebenso
2.	dgl.	+	„	+ 0,5 K.-S.	„ „	ganz vereinz.
3.	Lebende tierische Bac.	+	„	+ 0,5 NaCl	„ „	keine Phag.
4.	dgl.	+	„	+ 0,5 K.-S.	„ „	„ „
5.	Bouillonkulturbacillen	+	„	+ 0,5 NaCl	sehr schwache	schwache
6.	dgl.	+	„	+ 0,5 K.-S.	mäßige	starke

Auch aus diesen Versuchen geht ganz klar hervor, daß die Leibessubstanz der Bacillen selbst so verändert sein muß, daß sie dadurch der Phagocytose unzugänglich werden. Die eingreifende Alkalibehandlung, welche nicht nur zu einer Auflösung der Kapsel, sondern auch zur schweren Schädigung des Bakterienleibes geführt hat, ist doch noch ungenügend, um Phagocytose möglich zu machen. Die vereinzelten Phagocytosen solcher Bacillen, die hier und da zur Beobachtung kamen, können daran nichts ändern. Es ist also nicht die Ausbildung der Kapsel, welche die Phagocytose verhindert, die Kapselbildung ist vielmehr nur eine Teilerscheinung eines ganz besonderen Zustandes, welchen der Bacillus im Tierkörper annimmt und welcher in einer ganz durchgreifenden Aenderung derjenigen Beschaffenheit, welche der Bacillus im saprophytischen Kulturzustande hat, bestehen muß. Bereits in einem früheren Abschnitte dieser Untersuchungen hat Bail[1]) auf diese Möglichkeit hingewiesen.

Um diese Verhältnisse näher zu studieren, gibt es noch eine andere Methode. Namentlich Bail hat darauf aufmerksam gemacht, daß im Tierkörper nicht unter allen Umständen Kapselbacillen zu finden sind. Sie kommen am schönsten vor zu einer Zeit, wo das Tier noch nicht mit Milzbrandbacillen überschwemmt ist; gegen das Ende des Tieres und besonders im toten Tiere findet man namentlich in den Organen Bacillen, die sich durch ihre Dicke ganz gut von Kulturbacillen unterscheiden lassen, aber bei Karbolmethylenblaufärbung keine Kapsel zeigen und von denen aus Uebergänge zu den relativ schlanken Kulturbacillen vorkommen. In den Organen an Milzbrand gestorbener Kaninchen ist das ein ganz gewöhnlicher Befund, aber auch bei Meerschweinchen kann man ähnliches beobachten und es kann bei Beobachtung der intraperitonealen Infektion leicht geschehen, daß man während des Lebens nur Bacillen mit mächtig entwickelten Kapseln findet, während im Exsudate des gestorbenen Tieres diese nur einen kleinen Bruchteil der Bacillen ausmachen, deren große Mehrheit schmale oder keine Kapseln trotz des sonst erhaltenen animalisierten Aussehens hat.

Es mußte nun untersucht werden, ob derartige Bacillen, die ihre Kapselbildung aufgegeben haben, noch phagocytoseresistent sind. Verwendet wurden Bacillen aus den Organen gestorbener Meerschweinchen und Kaninchen. Meist wurden zu diesem Zwecke die Organe in einer Reibschale mit Kochsalzlösung zerquetscht und der erhaltene dünne Brei sofort in einer Wasserzentrifuge mit mäßiger Tourenzahl zentrifugiert. Dabei setzen sich Zellen rasch ab, während die obenstehende Flüßigkeit neben Zellenresten reichlich Bacillen enthielt, welche sich jetzt durch scharfes Zentrifugieren auf einer Zentrifuge mit hoher Tourenzahl leicht isolieren lassen.

Versuch VI.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Kaninchenleber.

Versuch mit Kaninchenleukocyten.

	Nach 1 St.	2 St.
1. Tierische Bac. + K.-Leuk. + 0,5 K.-S.	keine Phagocytose	ganz vereinzelte
2. Agarkulturbac. + „ + 0,5 „	mäßige	ziemlich starke

Versuch mit Meerschweinchenleukocyten.

1. Tierische Bac. + M.-Leuk. + 0,5 M.-S.	ganz vereinzelte Phagocytose	ebenso
2. Agargulturbac. + „ + 0,5 „	mäßige	starke

---

[1]) Bail, Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I. Orig. Bd. 46. 1908. p. 493.

Versuch VII.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Kaninchenleber.

Meerschweinchenleukocyten.

	Nach 1 St.	2 St.
1. Tierische Bac. + M.-Leuk. + 0,5 M.-S.	ganz vereinzelte Phagocytose	ebenso
2. Agarkulturbac. + „ + 0,5 „	starke	sehr starke

Nach 2 Stunden wurden Agarkulturbacillen so stark phagocytiert, daß man fast keine extracellulär liegenden Bacillen finden kann.

Tierische Bacillen wurden in diesem und auch in dem vorigen Versuche nur von den Makrophagen phagocytiert.

Versuch VIII.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Meerschweinchenleber.

Meerschweinchenleukocyten.

	Nach 1 St.	2 St.
1. Tierische Bac. + M.-Leuk. + 0,5 M.-S.	Keine Phagocytose	ganz vereinzelte
2. Agarkulturbac. + „ + 0,5 „	ziemlich starke	starke

Versuch IX.

Tierische Milzbrandbacillen aus der Meerschweinchenleber.

Versuche mit Kaninchenleukocyten.

	Nach 1 St.	2 St.
1. Tierische Bac. + K.-Leuk. + 0,5 K.-S.	Keine Phagocytose	ebenso
2. Agarkulturbac. + „ + 0,5 „	mäßige	mäßige

Versuch mit Meerschweinchenleukocyten.

1. Tierische Bac. + M.-Leuk. + 0,5 M.-S.	Keine Phagocytose	ebenso
2. Agarkulturbac. + „ + 0,5 „	ziemlich starke	starke

Auffallend war, daß bei solchen zwar animalisierten, aber kapselfreien Bacillen einzelne Phagocytosen beobachtet wurden, daß diese aber so gut wie ausschließlich von Makrophagen ausgeübt wurden, während polynukleäre Leukocyten, welche ihre Fähigkeit zur Phagocytose in Kontrollversuchen mit Kulturbacillen [1]) bewiesen, wirkungslos waren. Jedenfalls zeigen auch kapselfreie Bacillen aus dem Tierkörper noch Phagocytoseresistenz, wodurch das Hauptergebnis dieser Versuche bekräftigt wird. Dieses läßt sich dahin ausdrücken, daß nicht die Kapsel, welche die Milzbrandbacillen im Tierkörper annehmen, die eigentliche Ursache ihrer Widerstandskraft gegen die Reagensglasphagocytose und wohl auch gegen die im lebenden Tierkörper ist. Diese muß vielmehr in einer geänderten Leibesbeschaffenheit der animalisierten Bacillen gesucht werden, welche weder durch Hitze von 60° C noch durch Behandlung mit freiem Alkali verändert wird. Die Kapselbildung ist ein Merkmal dieser Leibesbeschaffenheit, das meistenteils vorkommt, aber nicht das Wesen derselben bedingt. Die Versuche mit toten tierischen Bacillen beweisen weiter, daß nicht eigentlich die Sekretion einer Substanz die Leukocyten von einem Angriffe auf die Bacillen abhält; wenn eine solche Substanz existiert, haftet sie jedenfalls fest am Bacillenleibe und wird durch einfache Manipulationen im Reagensglase nicht nach außen hin abgegeben. Das stimmt auch mit den Tierversuchen überein, wo man

---

1) Es wurden zu diesen Versuchen Bacillen von junger Agarkultur verwendet, welche dicker sind als Bouillonkulturbacillen und mit den kapsellosen Bacillen aus Organen toter Tiere etwas Aehnlichkeit haben.

beobachten kann, wie Leukocyten trotz Anwesenheit großer Mengen von Kapselbacillen frisch injizierte Kulturbacillen aufnehmen.

Im Anhange sei noch einiger, bisher vereinzelter Versuche mit dem Milzbrandstamme Lissa Erwähnung getan. Wie bereits Toyosumi beschrieben hat, handelt es sich hier um einen von Prof. Bail aus dem mit Kalkmilch desinfizierten Boden eines Rinderstalles gezüchteten Milzbrand, der sich wie ein Vaccin verhält, und trotz vielfacher Tierpassagen bisher seine Eigenschaften nicht geändert hat. Beim Versuch mit Mäusen, die intraperitoneal mit großen Mengen Agarkultur geimpft wurden, trat Tod noch nach ca. 12 Stunden ein. Das Exsudat enthielt zahlreiche Bacillen, welche keine Kapsel zeigten, dabei aber dicker als Kulturbacillen erschienen. Diese Bacillen wurden von Leukocyten von Meerschweinchen phagocytiert, ganz ähnlich wie Kulturbacillen.

Nachdruck verboten.

Ueber die konjunktivale und kutane Reaktion bei Pest, im Vergleich mit Agglutinations- und Komplementbindungsvermögen des Krankenserums.

Von Dr. **Tamie Amako,**
Direktor am städtischen Krankenhause für Infektionskrankheiten zu Kobe (Japan).

Obwohl die Wolf-Eisnersche Ophthalmoreaktion und die v. Pirquetsche Kutanreaktion bei Tuberkulösen beinahe unübersehbar häufig beschrieben wurden, sind die Mitteilungen über dieselben bei anderen Infektionskrankeiten, mit Ausnahme des Typhus, sehr spärliche.

Im folgenden werde ich meine Erfahrungen zusammenfassen, welche ich über die Konjunktival- und Kutanreaktion an den Pestkranken, die bei den letzten Epidemieen in unserem Krankenhause aufgenommen wurden, sammelte.

Beim Versuche wurde die Versuchsmethode der Typhusallergie von Chantemesse (1), Kraus, Lysenberger und Russ (2), Orszag (3), Meroni (4), Link (5) u. a. mehr oder weniger zur Anwendung gebracht.

Das Untersuchungsmaterial wurde aus virulenten Pestbakterienstämmen hergestellt, welche aus Pestleichen und aus Pestkranken gezüchtet waren, wie folgt:

Eine zwei Wochen alte Pestbouillonkultur wurde mit Ueberschuß von absolutem Alkohol gefällt, filtriert, der Rückstand des Filters abgekratzt, im Vakuum getrocknet und sorgfältig zerrieben. Von dem Pulver wurde 1 g in 100 ccm Kochsalzlösung aufgenommen, dann filtriert, und endlich ihre Sterilität durch Ueberimpfung auf Agar und Bouillon geprüft. Das Filtrat wurde sodann zur Untersuchung benutzt.

Vor der Anstellung überzeugte ich mich stets, ob kein Katarrh an den Augen bestand. Ein Tropfen Filtrat wurde am unteren Augenlid eingetröpfelt und die Reaktionsergebnisse wurden nach 6, 12 und 24 Stunden untersucht. Beim Versuche in bezug auf die Kutanreaktion wurde auch obengenanntes Filtrat verwendet. Die Impfung wurde an der Haut des mit Aether gereinigten Oberarms dadurch vorgenommen,

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

daß ich mit einem in das genannte Material getauchten Messerchen die Haut mehrmals ritzte. Zur Kontrolle wurden auch jedesmal die Impfschnitte ohne Material gemacht.

Zur Vergleichung wurden zugleich Agglutinations- und Komplementbindungsversuche mit den Krankenseren ausgeführt.

Shibayama (6) schrieb schon, daß die Pestagarkulturen, die zähe und schleimige Beschaffenheit haben, schwer agglutinierbar, dagegen die wenig schleimigen leicht agglutinierbar sind. Der Autor fand dabei, daß alle schleimigen und schwer agglutinierbaren Kulturen bei 32° und 37° wenig schleimig und leicht agglutinierbar waren, wenn sie bei Eisschranktemperatur kultiviert wurden. So wurden bei meinen Agglutinationsversuchen jedesmal wenig schleimige Kulturen, die bei Eisschranktemperatur aufbewahrt wurden, verwendet.

Die Komplementbindungsversuche wurden unter Verwendung von Pestextrakt (Antigen), fallenden Mengen des Krankenserums (Antikörper), Meerschweinchenserum in einer Verdünnung 1 : 10 (Komplement), einer doppelt komplett lösenden Dosis von hämolytischem Kaninchenserum und 5-proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen angestellt. Extrakt wurde aus Pestagarkulturen folgendermaßen hergestellt:

Zehn Oesen einer Pestagarkultur wurden in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, dann 2 Stunden bei 60° erhitzt und 24 Stunden bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Darauf wurde diese Emulsion zentrifugiert und die dadurch erhaltene, schwach getrübte Flüssigkeit zur Untersuchung benutzt. Extrakt wurde gewöhnlich aus einem Peststamm (Monovalent-Extrakt), zuweilen auch aus 3 bis 5 Stämmen (Polyvalent-Extrakt) hergestellt. Die Versuche wurden nach der Vorschrift von **Leuchs** und **Schöne** (7) ausgeführt.

Die Diagnose der Kranken wurde durch den Nachweis der Pestbacillen in dem Bubo (bei Pestpneumonie im Sputum) gestellt.

Tabelle I. Versuche bei fiebernden Pestkranken.

No.	Name	Alter	Diagnose	Krankheitstage	Ophthalmoreaktion			Kutanreaktion			Agglutination	Komplementbindung
					6 Std.	12 Std.	24 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.		
1	Y. Y.	17	B-P	10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+ 20	++
2	R. Y.	16	B-P	7	+++	++	+	+++	+	+	—	—
3	K. M.	19	B-P	8	++	++	?	+++	+	+	—	++
4	M. F.	18	B-P	5	++	++	—	++	++	+	—	—
5	M. S.	15	B-P	5	++	?	?	?	—	—	—	—
6	Y. M.	17	B-P	6	—	—	—	?	—	—	—	—
7	Y. H.	63	B-P	13	?	—	—	?	?	—	+ 20	+++
8	K. F.	18	B-P	3	?	—	—	?	?	—	—	—
9	S. Y.	22	P-P	2	?	—	—	?	?	—	—	—

Anmerkung: B-P = Bubonenpest, P-P = Pestpneumonie.
Reaktion ++++ = außerordentlich starke Reaktion,
„ +++ = deutliche Reaktion,
„ ++ = mittelgradige Reaktion,
„ + = schwache Reaktion,
„ ? = unbedeutende Reaktion,
„ — = keine Reaktion.

Agglutination + 10, + 20 etc. bedeutet, daß Agglutinationstiter 1 : 10, 1 : 20 etc. ist.

Komplementbindung +++ bedeutet, daß 0,1 ccm oder weniger Serum noch komplette Hemmung ergeben. ++ bedeutet, daß 0,2 oder 0,3 ccm noch komplette Hemmung ergeben. + bedeutet, daß komplette Hemmungen nicht zu erzielen sind. — bedeutet negativ (komplett oder fast komplett gelöst).

Tabelle II. Versuche bei Pestrekonvaleszenten.

No.	Name	Alter	Diagnose	Krankheitstage	Ophthalmoreaktion			Kutanreaktion			Agglutination	Komplementbindung
					6 Std.	12 Std.	24 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.		
1	T. T.	27	B-P	28	?	++	+	?	?	?	+ 80	++
2	H. K.	35	B-P	32	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+ 20	+++
3	Y. T.	23	B-P	40	?	?	—	?	—	?	+ 10	+
4	K. K.	48	B-P	29	+++	++	++	++	++	+	—	++
5	K. B.	62	B-P	22	?	—	—	?	—	—	+ 80	+++
6	S. B.	4	B-P	20	+	+	—	+	+	+	+ 60	++
7	G. M.	18	B-P	52	+	+	?	+	?	—	+ 20	+++
8	J. S.	15	B-P	20	++	++	+	++	+	—	+ 80	+
9	T. E.	23	B-P	46	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+ 80	+++
10	A. K.	38	B-P	42	—	—	—	—	—	—	+ 20	++

Von 9 Pestkranken, welche anfangs fieberten, hatten 5 bei Ophthalmoreaktion und 4 bei Kutanreaktion ein sicheres positives Ergebnis. Die Intensität der Reaktion war von der Dauer der Krankheit unabhängig.

Von 10 Rekonvaleszenten waren bei 2 Fällen beide Reaktionen sehr ausgesprochen, so daß die starken Reaktionssymptome 7 Tage lang, wenn auch abgeschwächt, fortdauerten. Bei den übrigen waren dieselben teils mehr oder weniger auffallend, teils ganz negativ, oder sehr schwach.

Sowohl bei den fiebernden Kranken, als auch bei den Rekonvaleszenten fiel die Konjunktival- und Kutanreaktion in den meisten Fällen parallel aus, wenn auch in wenigen Fällen sich zwischen den beiden eine deutliche Verschiedenheit zeigte. Kein bestimmtes Verhältnis wurde zwischen der Intensität der Reaktion und der agglutinierenden und komplementbindenden Kraft des Serums von einem und demselben Falle beobachtet. Auch beide letztgenannten Fähigkeiten des Serums zeigten keinen Parallelismus.

Tabelle III. Versuche bei nicht Pestösen.

No.	Name	Alter	Diagnose	Ophthalmoreaktion			Kutanreaktion		
				6 Std.	12 Std.	24 Std.	6 Std.	12 Std.	24 Std.
1	K. M.	34	Typhus	—	—	—	—	—	—
2	S. S.	42	„	—	—	—	—	—	—
3	J. H.	44	Dysenterie	—	—	—	—	—	—
4	K. O.	25	Typhus	—	—	—	—	—	—
5	T. N.	19	„	?	—	—	?	—	—
6	I. N.	25	„	?	—	—	?	?	?
7	I. K.	19	Dysenterie	?	—	—	?	?	?
8	T. H.	43	Typhus	—	—	—	—	—	—
9	Y. K.	3	Diphtherie	—	—	—	—	—	—
10	H. O.	2	„	—	—	—	—	—	—

Wie aus der Tabelle III ersichtlich ist, geben die Nichtpestösen in den meisten Fällen gar keine Reaktion. Wenn man auch bei wenigen Fällen sehr schwache Rötung an der betreffenden Conjunctiva oder kutan beobachten konnte, so verschwand dieselbe doch verhältnismäßig rasch.

Um zu bestimmen, ob auch durch die Reizung des Bouillonpeptons bei den oben genannten Verfahren Reaktion einträte, wurden folgende Versuche ausgeführt:

Die übliche Bouillon wurde mit Ueberschuß von absolutem Alkohol gefällt, filtriert, das Koagulum getrocknet und davon eine 1-proz. Lösung bereitet. Mit dieser Lösung wurden die Kranken, die bei der Verwendung von Pestextrakt ein sicheres positives Ergebnis zeigten, geprüft.

Eine Reihe der Versuche mit dieser Lösung gab auf der Conjunctiva sowie kutan keine sichtbare Reaktion.

Um auch zu konstatieren, ob die Erwärmung des Materials auf 60° ihre Aktivität zerstört, wurde einerseits oben genanntes Material 3 bis 6 Stunden lang auf 60° erwärmt, andererseits das Material auf eine andere Weise hergestellt, indem ich dabei die Bereitungsweise des Chantemesseschen Typhusextraktes anwandte:

Eine virulente Agarkultur wurde in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, auf 60° erwärmt, zentrifugiert, dekantiert, im Vakuum getrocknet und dann sorgfältig zerrieben. Davon wurden 3 g in 100 ccm sterilisierten Wassers aufgenommen, auf 60° erwärmt und dekantiert; die abgegossene Flüssigkeit wurde mit Ueberschuß von absolutem Alkohol gefällt, der Niederschlag im Vakuum getrocknet und zerrieben. Von demselben wurde 1 g in 100 ccm Kochsalzlösung aufgenommen. Diese Lösung reagierte im allgemeinen wenig schwächer als ein unerhitztes Extrakt, das in oben genannter Weise mit Bouillonkultur hergestellt wurde. Ein mit der Bouillonkultur hergestelltes erhitztes Extrakt brachte auch eine etwas schwächere Reaktion hervor, als unerhitztes, wenn auch kein nennenswerter Unterschied zwischen den beiden bestand.

Sowohl bei den Versuchen bezüglich der Konjunktival- und Kutanreaktion, als auch bei den Komplementbindungsversuchen ließen monovalentes und polyvalentes Extrakt keinen merkbaren Unterschied in ihrer Aktivität erkennen.

Schlußfolgerungen.

1) Die konjunktivale und kutane Reaktion bei Pest fiel etwa in der Hälfte der Fälle im positiven Sinne aus.

2) Zwischen Intensität der beiden Reaktionen und Agglutinations- und Komplementbindungsvermögen des Serums von entsprechenden Fällen konnte man kein bestimmtes Verhältnis beobachten, ebenso auch fielen Agglutinations- und Komplementbindungsvermögen nicht parallel aus.

3) Bei 2 Rekonvaleszenten war die Reaktion außerordentlich stark, so daß die starken Reaktionssymptome 7 Tage lang fortdauerten. Aber die Verwendung des Pestextraktes führte sowohl bei konjunktivaler, als auch bei kutaner Anwendung nie zu schädlichen Folgen.

4) Das unerhitzte Extrakt war wenig stärker aktiv als erhitztes. Zwischen der Aktivität des monovalenten Extraktes und der des polyvalenten zeigte sich kein sichtbarer Unterschied.

5) Die kutane und konjunktivale Reaktion bei Pest ist meines Erachtens für den praktischen diagnostischen Zweck nicht verwendbar.

Zum Schlusse spreche ich dem Herrn Dr. Völckers für die gütige Unterstützung bei dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

Literatur.

1) Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 39.
2) Wiener klin. Wochenschr. 1907. No. 45.
3) Dtsche med. Wochenschr. 1908. No. 15.
4) Münchener med. Wochenschr. 1908. No. 26.
5) Ebenda. 1908. No. 14.
6) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVIII. 1905.
7) Zeitschr. f. Hyg. Bd. LX. 1908.

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zum Nachweis des Tuberkelbacillus im Gewebe.

[Aus dem pathol.-anatom. Institute (Vorstand: Hofrat Prof. Dr. A. Weichselbaum) und der Abteilung für Haut- und Geschlechtskrankheiten im Wiener k. k. Allgem. Krankenhause (Vorstand: Prof. Dr. S. Ehrmann).]

Von Dr. **Wilhelm Lier,** Wien.

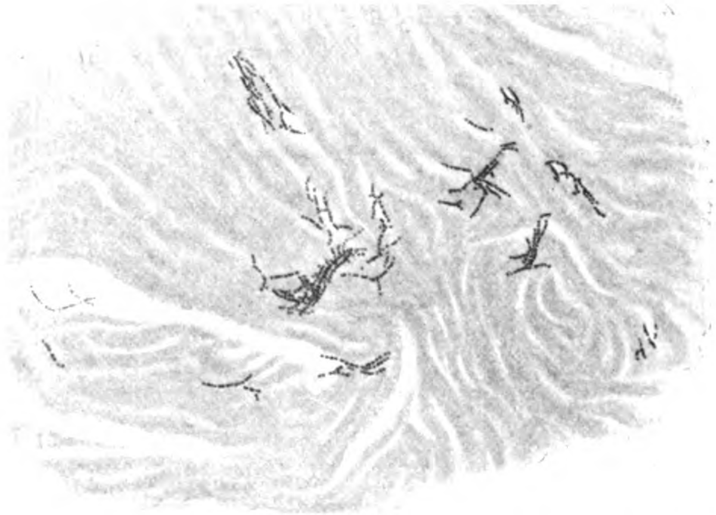
Mit 1 Figur.

Die interessanten Untersuchungen Muchs und seines Schülers Wirths über die nach Ziehl nicht färbbare Form des Tuberkulosevirus gaben den Anstoß zu dieser Arbeit. Dabei leitete mich die Hoffnung, durch eine eventuelle Bestätigung der Befunde der genannten Autoren Aufschluß zu erhalten über das so spärliche Vorkommen des Tuberkelbacillus im Lupus vulgaris und in die zurzeit noch viel umstrittene Aetiologie der als Tuberkulide bezeichneten Affektionen der Haut Klarheit zu bringen. Ein Ziel, das übrigens — wie sogleich bemerkt sei — nur zum kleinsten Teil erreicht wurde.

Zunächst einige Bemerkungen zur Technik der Untersuchung! Während die Herstellung der Präparate aus dem Sputum oder aus kalten Abszessen ein leichtes ist, stößt man bei der entsprechenden Färbung von Schnitten — und ich habe es vorwiegend mit solchen zu tun gehabt, da ich mich ausschließlich mit dem histologischen Teil der Frage befaßte — auf eine große Schwierigkeit. Zur Anwendung kam ganz allein die von Much als Methode II bezeichnete Modifikation der Gramschen Färbung. Dabei zeigte es sich nun, daß trotz wiederholten Filtrierens des Farbstoffes (einer Lösung von Methylviolett B. N. [Grübler] in Karbolwasser) es nicht möglich war, völlige Niederschlagsfreiheit zu erzielen. Erst als die Farblösung filtriert, zentrifugiert, abpipettiert, abermals filtriert wurde und die Präparate nun in Glasdosen auf einer Art Leiter mit der beschickten Seite nach abwärts gefärbt wurden, gelang es tadellose, völlig niederschlagsfreie Schnittfärbungen zu erhalten. An der Forderung absoluter Niederschlagsfreiheit ist aber hier, wo es sich um die Deutung kleinster Granula als bacillärer Elemente handelt, unbedingt festzuhalten.

Auch die Differenzierung der Präparate gelingt erst bei einiger Uebung.

Was nun die Ergebnisse der Untersuchungen betrifft, so kann ich sie kurz in folgendem zusammenfassen: Wenn man Tuberkulosen der verschiedensten Organe vergleichsweise sowohl nach Ziehl als nach der Muchschen Methode II auf Tuberkelbacillen untersucht, so findet man im großen und ganzen eine weitgehende Uebereinstimmung der Befunde bei beiden Färbungen; wo man gramgefärbte Bacillen antrifft, sieht man im Nachbarschnitte meist entsprechend viel nach Ziehl rot gefärbte Bacillen, nur daß diese letzteren gewöhnlich als solide Stäbchen erscheinen, während durch die modifizierte Gram-Färbung in exquisiter Weise die Körnchen des Zellleibes gefärbt werden, so daß dadurch die Zusammensetzung der Tuberkelbacillen aus Granula sehr deutlich hervortritt. Immerhin konnte ich in einer nicht ganz kleinen Zahl von Tuberkulosen, wo die Untersuchung nach Ziehl resultatlos geblieben war, nach der modifizierten Gram-Methode Tuberkelbacillen nachweisen; und zwar handelte es sich dabei verhältnismäßig oft um kurze Formen derselben, welche nur aus 2 bis 3 zu einem Stäbchen hintereinandergereihten Granula bestehen. Auch in Präparaten von Lupus vulgaris, in denen säurefeste Bacillen nicht zu finden waren, konnte ich diese



kurzen Formen hie und da antreffen, ebenso in Solitärtuberkeln des Gehirnes und in käsig-kreidigen Lymphdrüsen, in denen ja sonst die Ausbeute nach Ziehl eine recht spärliche oder ganz ergebnislose ist. Ich glaube daher, infolge dieser Erfahrungen empfehlen zu können, daß man künftig beim Suchen nach Tuberkelbacillen neben den bisher meist angewendeten Methoden auch die Gramsche Färbung heranziehen möge.

Dabei bin ich mir dessen wohl bewußt, daß einzelne der nach Much positiven Ergebnisse ihren Grund darin haben, daß im Ziehl-Präparate Bacillen übersehen worden sind. Denn es ist nicht zu vergessen, daß der rot gefärbte Bacillus, wenn er nur vereinzelt vorkommt, auf dem mit Methylenblau nachgefärbten Schnittgrunde viel weniger plastisch hervortritt und daher selbst bei sorgfältiger Durchmusterung viel leichter übersehen werden kann als der bei der Muchschen Färbung auf dem mattvioletten, wenig differenzierten Grunde mit tiefblauschwarzer Farbe sich scharf abhebende Bacillus. Da jedoch von jedem einzelnen Fall zahlreiche Präparate nach beiden Methoden zur sorgfältigen Untersuchung kamen, glaube ich diesen Fehler des Uebersehens einzelner nach Ziehl gefärbter Bacillen nicht oft begangen zu haben.

Daß die Muchsche Färbung den Bacillus und seine Struktur sehr schön erkennen läßt, zeigt das beiliegende Bild (s. Figur), welches Bacillenhaufen vom Rande eines solitären Hirntuberkels vorstellt. Man sieht verschieden lange, granulierte Formen, manche kettenartig oder kurzgliedrigen Fäden ähnlich; bei einzelnen Formen hat es den Anschein, als zeigten sie Verzweigungen. Daneben sieht man auch jene kurzen Stäbchen, von denen oben die Rede war.

Doch möchte ich darauf hinweisen, daß sich unregelmäßig in Gruppen zusammenstehende Körnchen, wie sie Much als eine und zwar die reinste Form des sogen. granulären Virus der Tuberkulose beschreibt, in niederschlagsfreien Präparaten fast nie finden oder aber bei Nachfärbung als Kokken oder andersartige Elemente erkannt werden. Einzelne Granula als Bacillenkörnchen zu deuten ist aber überhaupt nicht angängig, da wir absolut keine Anhaltspunkte haben, sie von Zerfallsprodukten anderer Provenienz zu unterscheiden. Much wie auch Wirths geben zwar an, daß die Granula des Tuberkulosevirus oft schon nach 24 Stunden abblassen und ganz verschwinden und daß somit die Möglichkeit gegeben sei, sie von andersartigen Niederschlägen zu unterscheiden. Bei Anwendung durchwegs tadelloser Reagentien, besonders von reinem Xylol (Merck) und reinstem Canadabalsam, haben sich mir jedoch die Körnchen des Bacillenleibes bis zu 6 Wochen und länger deutlich erhalten. Erst später beginnen sie zu verblassen, so daß zwar noch die Stäbchenform, nicht mehr aber ihre Zusammensetzung aus Granula erkenntlich ist. Im übrigen muß ich mich aber ganz dem anschließen, was Liebermeister am Schlusse seiner in No. 28 der Deutschen mediz. Wochenschrift v. J. 1909 erschienenen Arbeit darüber sagt.

Die Untersuchung des Hautmateriales, welches der Abteilung des Herrn Prof. Ehrmann entstammt, erstreckte sich auf Lupus vulgaris, sowie einige Tuberkulide, wie Lichen scrophulosorum, Boecksches Miliarlupoid, Lichen nitidus etc.

Ueber meine Befunde beim Lupus vulgaris habe ich oben berichtet. Die Durchsicht der Schnittpräparate von anderen, bezüglich ihrer Aetiologie, ob bacillär oder bloß durch Toxine erzeugt, noch strittigen Hautaffektionen ist noch nicht abgeschlossen. Zweifellos wird auch hier ein fleißiges Durchschauen vieler Präparate uns öfter Bacillen finden lassen, wo wir bisher nur selten oder niemals solche getroffen haben. So konnte ich in einem histologisch exquisiten Falle von Lichen nitidus Pinkus[1]) nach der Muchschen Methode unzweifelhaft, wenn auch nur vereinzelt, aus Körnchenreihen bestehende Tuberkelbacillen nachweisen.

---

[1]) Vorgestellt von Königstein in der Wiener Dermatologischen Gesellschaft 1909.

Literatur seit Erscheinen der Muchschen Arbeiten siehe bei Weiss, Münchener med. Wochenschrift, 1909, No. 9.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über Anaërobienzüchtung nach dem Tarozzischen Verfahren.

[Aus dem Hygien. Institut der Kgl. Universität Turin (Leiter: Prof. L. Pagliani).]

Von Dr. **A. Calderini.**

Seit Pasteur die Existenz von Keimen, die nur bei Sauerstoffabwesenheit einer Entwickelung fähig sind, entdeckt hat, sind diese Keime zum Gegenstande zahlloser Untersuchungen gemacht worden. Man ist dabei wohl zur Kenntnis zahlreicher Arten derartiger Mikroorganismen gelangt, doch hat die Züchtungstechnik, besonders was die Isoliermittel betrifft, nicht jenen Grad von Vervollkommnung, d. h. leichter Verwendbarkeit erreicht, die für die gewöhnliche bakteriologische Praxis wünschenswert wäre.

Recht wenig ist das, was bisher über die Biologie dieser Keime bekannt ist, und völlig unaufgeklärt ist gar die Wirkungsweise des Sauerstoffes auf dieselben, ob sie nämlich der Wirkung eines Antiseptikums, einer für diese Mikrobenzellen giftigen Substanz vergleichbar ist, oder ob die Anwesenheit von Sauerstoff gewisse chemische Veränderungen des Nährbodens, die zu ihrer Entwickelung notwendig sind, stört und beeinträchtigt.

Unter den Hypothesen, die das Vorkommen derartiger Keime in der Natur zu erklären versuchen, wo ja keineswegs die für Laboratoriumskulturen sich als notwendig erweisenden Bedingungen strengster Anaërobiose gegeben sind, ist in erster Linie Pasteurs Hypothese zu erwähnen, wonach die Fäulnisanaërobien ihre Entwickelung den aërobischen Keimen verdanken, welche den Sauerstoff absorbieren und dadurch das Terrain für die Entwickelung der ersteren vorbereiteten und in den erforderlichen Bedingungen erhielten.

Zu anderer Annahme gelangten dagegen Kitt und Kedrowski; auf Grund des Nachweises der Entwickelungsfähigkeit der obligaten Anaërobien bei Anwesenheit von Luft in Nährböden, worauf vorher gewisse aërobische Gattungen zur Entwickelung gekommen, schrieben die genannten Autoren das Phänomen einem von letzteren erzeugten Ferment zu. Diese späterhin von Matzuschita und anderen Forschern angefochtene Anschauung nähert sich der Vermutung Bienstocks, der zuweilen seinen B. putrificus in Substraten aus Fibrin und Ascitesflüssigkeit zur Entwickelung zu bringen vermochte, nachdem auf denselben der B. pyocyaneus sich entwickelt hatte, und diesen Umstand der Freimachung unbestimmter Produkte durch den B. pyocyaneus selbst zuschreibt.

Anderen Autoren nach wäre ein Hauptfaktor der Anaërobiose die Symbiose, und Fermi erzielte tatsächlich ein Wachstum anaërobischer Keime in Symbiose mit Blastomyceten und auch mit abgestorbenen Kulturen. Tarozzis interessante, von vielen Forschern (Baudini, Wrzosek, Ori, Grisconi) bestätigte und vervollständigte Beobachtungen über Anaërobienkulturen in Aërobiose bei Anwesenheit von Stücken beliebiger, frischer Tierorgane haben nicht nur die bakteriologische Technik um ein sehr praktisches Kulturverfahren bereichert, sondern auch den Forschungen nach dem eigentlichen Wesen der Anaërobiose neue Wege eröffnet. Von der Ansicht ausgehend, daß diese besondere Eigentümlichkeit nicht so sehr von der organischen Substanz als Ganzes, als vielmehr von irgendeinem Bestandteil derselben abhängen möchte, versuchten nämlich verschiedene Forscher, ob es nicht möglich wäre, denselben zu isolieren und seine Natur zu bestimmen. Sein Vorkommen in den verschiedenen Geweben in mehr oder minder großer Menge würde dann eine Erklärung für die verschieden große Fähigkeit der Gewebe, die Entwickelung der Anaërobien in solch besonderer Weise zu begünstigen, geben.

So konnte Ori, der das besondere Geeignetsein der Leber zu derartigen Kulturen festgestellt hatte, nachweisen, daß besagte Wirkung nicht durch die Anwesenheit von Glykogen bedingt ist, indem in Reagenzgläsern mit Bouillon und 1 Proz. Glykogen niemals Wachstum eintrat, während er andererseits reichliche Entwickelung erhielt bei Anwendung von Bouillon mit Stücken von Lebern, die den Tieren nach längerer Fastenzeit entnommen waren, also glykogenfrei sein mußten.

Er benutzte durch Papier gefilterte und fraktionsweise bei 55° C sterilisierte Extrakte von 24-stündigen Leberinfusionen in 25-proz. Glyzerin, in destilliertem Wasser und in physiologischer NaCl-Lösung und erzielte damit, namentlich mit dem Extrakt der Glyzerininfusion, aërobisches Wachstum der Anaërobien. Aus dem Umstand, daß nach Filtrierung durch eine Berkefeldsche Kerze dieses Extrakt seine Eigenschaften verliert, folgert der Autor, daß es sich wahrscheinlich um Eiweißsubstanzen handle, da bekanntlich viele derselben von den Filtrierkerzen zurückgehalten werden.

Baudini, der zu seinen Versuchen ein wässeriges, durch Papier filtriertes und bis zur völligen Klarheit zentrifugiertes Leberextrakt benutzte, fand, daß der klare, im Autoklaven sterilisierte Teil eine reichliche Entwickelung inmitten des sich bildenden dichten Gerinnsels gestattet, daß dieselbe aber nach Herausnahme des letzteren aufhört; das durch Berkefeldsche Kerze filtrierte Extrakt eignet sich nicht mehr zur aërobischen Entwickelung der Anaërobien. Auch das bei Bereitung gewöhnlicher Bouillon erhaltene eiweißhaltige Gerinnsel hat eine ausgesprochen begünstigende Wirkung. Baudini kommt daher zu dem Schluß, daß die das eigentümliche Wachstum der Anaërobien begünstigende Substanz eine wenigstens größtenteils lösliche, bei Wärme vollständig fällbare Substanz sei, die jedoch in geronnenem Zustand aktiv bleibe und den Eiweißsubstanzen verwandt sei.

Auf Prof. Volpinos Rat hin stellte ich nun eine Reihe von Untersuchungen an, um festzustellen, ob bei Behandlung der am ausgesprochensten sich zu derartigen Kulturen eignenden Organe mit den verschiedenen zur Extraktion der Lipoide benutzten Lösungsmitteln sich eine Substanz erhalten ließe, der man in besonderem Maße eine solche Wirkung zuschreiben könnte.

Schon Baudini hatte nachgewiesen, daß die gerinnende Wirkung des Aethylalkohols die begünstigenden Substanzen nicht schädigt, indem er reichliches Wachstum der Anaërobien erzielte, wenn er gewöhnlicher Bouillon das bei Behandlung einer wässerigen Leberinfusion mit Alkohol entstandene Gerinnsel beimengte.

Digitized by Google Original from UNIVERSITY OF CALIFORNIA

Ich hingegen ließ bei meinen Versuchen nacheinander und direkt verschiedene Fettlösemittel auf die Leber einwirken, 80-proz. Alkohol, Alk. absol., Benzol, Schwefeläther, Petroleumäther, Aceton, und hielt die Infusionen mehrere Tage hindurch auf 37 ° C.

Nach mehreren vergeblichen Versuchen erzielte ich mit folgendem Verfahren positive Resultate: Eine ganz fein zerhackte Kaninchenleber (man könnte übrigens ebensogut andere Lebern, wie Meerschweinchen-, Kalbsleber verwenden) wird zur Infusion in ca. 150 ccm 80-proz. Alkohol gebracht und unter mehrmaligem täglichen Umrühren 4 oder 5 Tage lang auf 37 ° C gehalten; nach Filtrierung durch Papier erhält man eine klare, gelbliche Flüssigkeit, die bei 50—60 ° eingedampft wird. Es bleibt ein teigiger, gelbbrauner Rückstand, der einen schmierigen Fleck auf dem Papier hinterläßt und in der Hitze sich verflüssigt, demnach anscheinend fettiger Natur ist. Man läßt nun den Rückstand in gewöhnlicher Bouillon zergehen, bis man eine vollkommen homogene und nicht zu dicke Emulsion erhält, neutralisiert sie — denn ihre Reaktion ist immer eine saure — und sterilisiert sie 10 Minuten lang bei 1 Atmosphäre Druck.

In dem so gewonnenen Nährboden entwickeln sich Milzbrandbacillus und B. oedematis maligni kräftig, bilden Sporen und erzeugen den für sie charakteristischen, intensiven Geruch. Verpflanzungen aus derartigen Kulturen in einfache Bouillon blieben immer ergebnislos.

Obgleich ich bisher nur mit den genannten zwei Keimen gearbeitet habe, glaube ich doch, mit Hinsicht auf ihren streng anaërobischen Charakter schon jetzt einige Folgerungen aus den erzielten Resultaten ziehen zu dürfen.

Indem die gleiche Leber nach der Behandlung mit 80-proz. Alkohol in die anderen Lösungsmittel kommt, wo sie jedesmal 4—5 Tage bei einer Temperatur von 37 ° C verbleibt, wird die Extraktmenge immer kleiner, und während die mit Alkohol abs. und mit Benzol erhaltenen Extrakte noch ein Wachstum gestatten, wenngleich nicht konstant (die Ursache davon habe ich bisher nicht entdecken können), waren mit den Schwefeläther- und Petroleumätherextrakten keinerlei Resultate zu erzielen.

Man könnte nun einwenden, daß die Fettsubstanzen, um die es sich handele, natürlicherweise an die Oberfläche der Flüssigkeit steigen und so eine Art Verschluß bilden; die Bedingungen der Anaërobiose wären dann rein mechanischer Natur und keineswegs irgendeiner besonderen Eigenschaft der Extrakte zuzuschreiben. Nun erhält man aber aus dem Extrakt der 80-proz. Alkoholinfusion eine homogene Emulsion, die sich bei der Sterilisierung teilweise klärt und durch ihre nachfolgende Trübung ein Urteil über das die Trübung hervorrufende Wachstum der Keime zuläßt. Bei den anderen Extrakten bilden sich nach der Sterilisierung Klümpchen, die sich von einander getrennt auf der Oberfläche der Bouillon halten und niemals zahlreich genug sind, um den Zutritt der atmosphärischen Luft zu verhindern; übrigens ist eben bei diesen Extrakten das Wachstum weniger konstant.

Aus den Versuchen Dr. Oris geht hervor, daß auch verschiedene pflanzliche Gewebe, besonders das der Kartoffel und der gelben Rübe, die Eigenschaft haben, das aërobische Wachstum der Anaërobien zu begünstigen. Ich wollte daher feststellen, ob es gelingen würde, mit einer der oben für die Leber beschriebenen gleichen Behandlung auch aus den letztgenannten Stoffen ein Extrakt mit gleichen Eigenschaften herzustellen. Ich zerrieb also eine Kartoffel und ließ sie ca. 10 Tage in 80-proz. Alkohol bei einer Temperatur von 37° C; aus der durch Papier filtrierten und eingedampften Flüssigkeit erhielt ich dann einen spärlichen Rückstand von dunkelbrauner Färbung, der, in Bouillon emulsioniert, den Anaërobien ein üppiges Wachstum gestattete.

Auch bei Aenderung der Reihenfolge der Lösemittel, z. B. wenn die Behandlung der Leber mit Alkohol abs. begonnen wird, erhält man die gleichen Resultate. Läßt man die Leber eintrocknen, um sie dann zu Pulver zu zerreiben und daraus eine Infusion direkt mit Benzol oder auch mit jedem beliebigen anderen Lösemittel herzustellen, so erhält man eine ganz geringe Menge Extrakt, das bei verschiedenen damit vorgenommenen Proben sich stets wirkungslos erwies.

Wahrscheinlich wird die begünstigende Substanz, bezw. die mit den vorbeschriebenen Verfahren erhaltene, durch den länger dauernden Einfluß der zur Eintrocknung nötigen Hitze verändert oder zerstört, wie auch die Einwirkung der Luft selbst tiefgehende Aenderungen (möglicherweise infolge von Oxydationsprozessen) hervorrufen muß, nachdem auch das die Anaërobienentwickelung am meisten begünstigende Extrakt, nämlich das mit 80-proz. Alkohol hergestellte, nach wenigen Tagen seine Eigenschaften einbüßt oder noch rascher, wenn es in Bouillon emulsioniert ist. Eine analoge Beobachtung hatte schon Ori mit seinem wässerigen Extrakt gemacht, während das Glyzerinextrakt seine Eigenschaft selbst bis zu 9 Monaten bewahren soll.

Bemerkenswert ist folgende Tatsache: Wenn man einen Teil der vorher allen diesen Behandlungen unterworfenen Leber sorgfältig mit Wasser wäscht, eine bestimmte Menge hiervon in ein Reagenzglas mit gewöhnlicher Bouillon bringt, sterilisiert und Anaërobien einsät, so gelangen diese noch zur Entwickelung; das Wachstum ist freilich langsamer und weit weniger üppig als auf frischem Gewebe, aber immerhin tritt es ein.

Es ließe sich demnach folgern: Entweder gelingt mit den angewandten Lösungsmitteln die Extraktion aller aktiven Substanzen nicht, oder, was noch wahrscheinlicher ist, die Eigenschaften der Leber rühren nicht von einer einzigen Gattung von Substanzen her, und auf Grund der von obengenannten Autoren erzielten Ergebnisse läßt sich auch daran denken, ob es nicht vielleicht den Proteinkörpern zuzuschreiben ist, wenn die Leber ungeachtet der erlittenen Behandlungen die Fähigkeit behält, das Wachstum der Anaërobien noch in gewissem Maße zu begünstigen.

Obgleich meine Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind, glaube ich immerhin, nach den bisher erzielten Resultaten behaupten zu dürfen:

Die das aërobische Wachstum der Anaërobien befördernde Wirkung der Leber in Tarozzischen Kulturen rührt, wenn nicht völlig, so doch sicher zum größten Teil von Körpern komplizierter Art her, welche höchstwahrscheinlich, sei es wegen ihres Verhaltens bei der Extraktion, sei es wegen einiger anderer Eigentümlichkeiten, die ich später genauer festzustellen versuchen werde, in die Kategorie von Substanzen einzureihen sind, die ihrer Zusammensetzung nach zu den Albuminoiden und den Fetten gehören, nämlich der Lipoide.

Sehr schwer ist es, die Wirkungsweise dieser Extrakte zu erklären; jedoch läßt sich mit Hinsicht auf ihre entfärbende Wirkung auf 1-proz. Methylenblaulösung annehmen, daß sie vielleicht dank ihres Reduktionsvermögens das Nährsubstrat derart modifizieren, daß das Wachstum der Anaërobien möglich wird.

Bibliographie.

Kedrowsky, Ueber die Bedingungen, unter welchen anaërobe Bakterien auch bei Gegenwart von Sauerstoff existieren können. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 20. 1895.)

Tarozzi, Sulla biologia di alcuni germi anaerobici etc. (Riforma Medica. Vol. 21. 1905. No. 6, 7, 8.

— —, Sulla facilità di coltivare facilmente all'aria, in coltura pura, i germi anaerobici. (Atti d. R. Accad. dei Fisiocrit. Siena. Serie IV. 1905. Vol. 15. No. 3—4.)

Wrzosek, Ueber das Wachstum obligatorischer Anaëroben auf Kulturmitteln in aërober Weise. (Wien. klin. Wochenschr. 1905. No. 28.)

Ori, A., Sulla coltura degli anaerobi. (Atti d. R. Accad. dei Fisiocrit. Serie IV. Vol. 16. 17. 1905.) e Rivista d'igiene e Sanità pubblica. (1° Luglio. 1906. No. 13.)

Bandini, Ricerche sulla coltivazione degli anaerobi. (R. Accad. di Medic. Torino 1906. p. 265.)

Nachdruck verboten.

Eine neue Methode zur Gewinnung von Reinkulturen aus ganzen Organen und Gewebsteilen.

Von Dr. **A. Feoktistow** in Taiizy bei St. Petersburg.

Anstatt das Impfmaterial aus den Geweben mit einer Platinnadel herauszuholen, kann man bekanntlich auch ein Stück Gewebe, resp. ein ganzes Organ in das Nährsubstrat versenken, die Abwesenheit zufälliger Oberflächenverunreinigung voraussetzend. Diese letztere Methode hat manchen Vorteil vor der Stichimpfung. Ihre Schattenseite bildet aber die viel wahrscheinlichere Verunreinigung der Kultur, welcher aber durch die Sterilisierung der Gewebsoberfläche vorgebeugt werden könnte. Es handelt sich nun darum, eine entsprechend sichere, einfache und nachteilslose Methode einer solchen Oberflächensterilisierung zu finden.

In dieser Richtung habe ich verschiedene Methoden erprobt, thermische und chemische.

1) Durch einige Sekunden dauerndes Eintauchen des Gewebes in Alkohol und sofortiges Abbrennen der auf der Oberfläche zurückbleibenden Spuren desselben läßt sich leicht die gewünschte Sterilisierung erzielen und die darauf gewonnenen Reinkulturen erweisen sich normal virulent. Immerhin ist diese Methode nicht besonders zu empfehlen, da, namentlich im Falle kleiner Gewebsstücke (z. B. kleine Organe von Mäusen), die Saat nicht selten sich als steril erweist. Es wird offenbar die Temperatur im Innern des Gewebes durch das Abbrennen des Alkohols bis zu einem den Mikroben schädlichen Grade erhöht.

2) Nicht sicher genug wirkt auch die Oberflächensterilisation vermittels eines Dampfstromes.

3) Absolut sicher hingegen und durchaus schadlos für die Mikroorganismen wirkt die Sterilisierung der Gewebsoberfläche vermittelst einer solchen chemischen Substanz, welche, nachdem sie die mikrobizide Rolle in den äußersten Gewebsschichten abgespielt und nun (mit dem Gewebs-

stück zusammen) in das Nährsubstrat gelangt, dort nunmehr sich absolut indifferent erweist. Es ist also die Gewebsoberfläche mit einer bakteriziden chemischen Substanz zu bearbeiten, deren nachfolgende Entfernung nicht nötig ist. Eine solche Substanz haben wir in den Lösungen von Aetzkali resp. Aetznatron, welche Lösungen in genügender Konzentration nicht nur die Mikroben abtötet, sondern selbst deren Körper zerstören. In die Nährlösung mit dem Gewebsstück gelangt, werden aber die Alkalilösungen dadurch vollkommen unschädlich, daß sie 1) die den Mikroben gefährliche Konzentration sofort verlieren, und 2) die in der Flüssigkeit stets vorhandene (aus der Luft geschöpfte), resp. von den Mikroben selbst gelieferte Kohlensäure absorbierend, sich in indifferentes (resp. den Mikroben nützliches) Na_2CO_3, resp. K_2CO_3 verwandeln.

Die Aetzalkalimethode habe ich an einem großen Material im Laufe von etwa einem Jahr in meinem Privatlaboratorium erprobt, und zwar ausschließlich an kleinen Organen von Mäusen, Ratten und diversen mäuseähnlichen Nagern, welche mit verschiedenen Species des sogenannten „Mäusetyphus" infiziert waren[1]). Selbst für die äußerst kleine Milz (etwa 4—5 mm lang und $1^1/_2$ mm dick) der hiesigen Brandmaus haben sich die Aetzflüssigkeiten absolut unschädlich erwiesen, da die daraus gewonnenen Reinkulturen stets die volle Virulenz beibehielten. Was die bakteriziden Eigenschaften der Alkalilösungen anbelangt, so waren selbstredend keine speziellen Kontrollversuche notwendig, im Laufe der Zeit gab aber manche Beobachtung den besten Beweis, daß zufallig auch stark oberflächlich beschmutzte Organe von der Alkalilösung wieder absolut „rein gewaschen" werden. So kam es vor, daß Organe von der Pinzette auf den Tisch, resp. die Diele fielen oder durch den Inhalt einer verletzten Darmschlinge besudelt wurden; stets genügte ein Abspülen mit Aetzlösung, um alle Verunreinigungskeime sicher abzutöten.

Die Technik der Methode ist äußerst einfach. Man seziert den Kadaver ohne jegliche Rücksicht auf äußere Infektion der Teile. Nachdem das bakteriologisch zu untersuchende, natürlich unverletzt gebliebene Organ entblößt ist, nimmt man saubere, aber nicht sterilisierte Instrumente taucht die Teile derselben, die mit dem Organ in Berührung kommen sollen, in Alkalilösung, schneidet oder schält das Organ heraus, taucht es sofort in dieselbe Lösung und bringt es von dort in das Nährsubstrat, also ohne vorhergehendes Abspülen mit sterilem Wasser.

Ich verwendete anfangs 15-proz. Alkalilösung, jetzt nur noch 10-proz. Es ist möglich, daß auch eine geringere Konzentration ausreicht. Aetzkalilösung ist der Aetznatronlösung vorzuziehen, da letztere weit mehr die Glasgefäße, in denen sie aufbewahrt wird, angreift. Es ist ferner zweckmäßig, die Lösung in einer nicht großen, weithalsigen Flasche aufzuheben, die man mit einem perforierten Gummistopfen verschließt, in welchem eine mit Natronkalkkörnern gefüllte Chlorcalciumröhre steckt. Dadurch wird der Zutritt von atmosphärischer Kohlensäure verhindert[2]).

---

[1]) Ich hatte vor, auch noch Versuche mit Wasserstoffsuperoxyd zu machen, welches in Kontakt mit tierischem Gewebe in Wasser und Sauerstoff zerfällt. Nachdem ich aber ausgezeichnete Resultate mit Aetzalkalien erhalten, hielt ich es für zwecklos, die Wirkung des weit weniger empfehlenswerten H_2O_2 zu untersuchen.

[2]) Für kürzere Zeit kann man natürlich jedes gut verschlossene Fläschchen verwenden, am wenigsten aber Flaschen mit Glasstöpseln, da die Lösungen die geschliffenen Teile besonders stark angreifen und der Stöpsel nach gewisser Zeit nicht mehr losgeht. Trockene Aetzalkalien hebt man auf in einer Burke mit mit Vaseline eingeschmiertem

Nachdem man den Stöpsel gehoben, füllt man rasch mit der Flüssigkeit eine entsprechend große Pipette, ohne den Hals der Flasche zu benetzen, schließt letztere sofort wieder mit dem Stöpsel, läßt den Inhalt der Pipette in eine entsprechend große Schale laufen, um sie sofort zum Abspülen der Organe oder Gewebsteile zu gebrauchen. Man vermeide, die Lösungen längere Zeit aufzubewahren, resp. größere Vorräte zu bereiten.

Eine länger dauernde Einwirkung der Aetzflüssigkeit auf ein Gewebe würde natürlich gefährlich werden, zu furchtsam braucht man aber in dieser Beziehung auch nicht zu sein. Selbst die kleinste Milz einer Brandmaus hält die Flüssigkeit ohne Schaden 3—5 Sekunden aus, die die Milz einer Wanderratte 6—8 Sekunden und auch mehr. Für die Oberflächensterilisation eines Organs ist aber so viel Zeit durchaus nicht nötig. Damit die Flüssigkeit auch auf die Stellen einwirkt, wo das Gewebe von der Pinzette gefaßt wird, läßt man letztere unter der Flüssigkeit los.

Es ist durchaus nicht zu befürchten, daß die Alkalinität der Nährflüssigkeit in einem schädlichen Grade erhöht wird durch die geringe Menge der Alkalilösung, welche auf der Oberfläche des Gewebes, resp. in den äußersten Schichten desselben verbleibt[1]). Selbst bei sehr wenig Nährflüssigkeit ist keine schädliche Wirkung des Alkali auf die gewonnenen Reinkulturen zu bemerken.

Taucht man ein durch Alkali bearbeitetes Gewebsstück oder ein Organ in ein Probierglas, welches wenig Bouillon enthält, so färbt sich letzteres, namentlich im unteren Teil, dunkel-blutrot. In dieser blut- und gewebsalbuminreichen Flüssigkeit ist ein besonders starkes Wachstum der Mikroben zu bemerken. Wenn das Organstück im Verhältnis zur Flüssigkeitsmenge groß genug ist, so ist es nicht notwendig, der Flüssigkeit künstliche Nähreigenschaften zu geben. Es genügt steriles Wasser — das Nährsubstrat bildet sich im selben von selbst im Laufe von wenigen Minuten durch Diffusion der Gewebssäfte. Es ist möglich, daß in einer solchen natürlichen Nährlösung Mikroben gezüchtet werden können, die in künstlichen Substraten nicht vegetieren, wohl aus dem Grunde nicht, weil der Chemismus der künstlichen Substrate mit den Eiweißstoffen lebender Gewebe auch nicht die entfernteste Aehnlichkeit aufweist. Für Versuche in dieser Richtung habe ich aber hier weder Zeit noch Material.

Glasstöpsel. Vor dem Gebrauch ist eine etwaige Kruste von kohlensaurem Salz von den Alkalistücken abzuschaben.

1) Merkliche Quanta freier Alkalilösung können wohl im Gewebe überhaupt nicht vorhanden sein, da das Alkali hier sofort Alkalialbuminate bildet.

Inhalt.

Amako, Tamie, Ueber die konjunktivale und kutane Reaktion bei Pest, im Vergleich mit Agglutinations- und Komplementbindungsvermögen des Krankenserums, p. 674.

Anschütz, Germán, Ueber den Entwickelungsgang des „Haemoproteus orizivorae“ nov. spec., p. 654.

Calderini, A., Untersuchungen über Anaërobienzüchtung nach dem Tarozzischen Verfahren, p. 681.

Feoktistow, A., Eine neue Methode zur Gewinnung von Reinkulturen aus ganzen Organen und Gewebsteilen, p. 685.

Koidzumi, M., On a new parasitic Amoeba, Entamoeba nipponica, found in the intestine of Japanese, p. 650.

Leon, N., Le Simulium columbaczense de Roumanie, p. 659.

Lier, Wilhelm, Ein Beitrag zum Nachweis des Tuberkelbacillus im Gewebe, p. 678.

Nunokawa, K., Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. VI. Ueber die Phagocytoseresistenz animalisierter Milzbrandbacillen, p. 668.

Ruata, Viktor, Ueber einen Kokkobacillus der menschlichen Bindehaut. Ein Beitrag zur Kenntnis der gramnegativen Diplokokken, p. 630.

Sabella, P., Experimentelle Untersuchungen über das Molluscum contagiosum des Menschen, p. 645.

Stein, Julius, Zur Frage des Magenmilzbrandes, p. 625.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Originale. Bd. 51. Heft 7.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band 51 enthaltenen Arbeiten.

Amako, Tamie, Ueber die konjunktivale und kutane Reaktion bei Pest, im Vergleich mit Agglutinations- und Komplementbindungsvermögen des Krankenserums. 674

Ambrož, Adolf, Entwicklungszyklus des Bacillus nitri sp. n., als Beitrag zur Cytologie der Bakterien. 193

Anschütz, Germán, Ueber den Entwicklungsgang des „Haemoproteus orizivorae“ nov. spec. 654

Bab, Hans, Die luetische Infektion in der Schwangerschaft und ihre Bedeutung für das Vererbungsproblem der Syphilis. Nebst Bemerkungen über das Wesen der Wassermannschen Reaktion. 250

Babes, V., Schlußbemerkungen zur „Antwort“ des Herrn Dr. B. Lipschütz, die bei Wut gefundenen kleinsten Körperchen betreffend. 448

Bail, Oskar, Ueber die Agglutinationswirkung des normalen Rinderserums. 170

—, Versuche über Infektionserleichterung durch Diphtherievergiftung. 226

Bang, O., Das Geflügeltuberkulin als diagnostisches Mittel bei der chronischen pseudotuberkulösen Darmentzündung des Rindes (Johnes disease). 450

Berka, F., Ueber das Verhältnis der zur Darstellung gelangenden Tuberkelbacillen bei Sputumfärbemethoden. 456

Calderini, A., Untersuchungen über Anaërobienzüchtung nach dem Tarozzischen Verfahren. 681

Campana, R. und **Carbone,** Verhalten des Leprabacillus einigen Fermenten gegenüber. 289

Cano, Umberto, Ueber die Wirkung einiger chemischer Stoffe auf das fixe Virus. 583

Carapelle, Eduardo und **Ferrara, Vincenzo,** Einfluß besonderer indifferenter chemischer Stoffe auf die Umwandlung der pathogenen Bakterien in Impfstoffe. Experimentelle Untersuchungen. 564

Carbone s. **Campana, R.**

Cecchetto, E., Zur Kenntnis der Trachomkörperchen. 536

Ciaccia, Matteo, Ueber die desinfizierende Wirkung der Formaldehydlösungen auf die Wände der Wohnungsräume. 178

Dahm, Serologische Untersuchungen bei der Variola vera. Kurze Mitteilung. 136

Eisenberg, Philipp, Weitere Untersuchungen über Fetteinschlüsse bei Bakterien. 115

v. Eisler, M., Ueber Wirkungen von Salzen auf Bakterien. 546

Emmerich, Rudolf, Berichtigung der Behauptung des Herrn Dr. Icilio Bocchia in seinem Aufsatz „Die Pyocyanase“, Bd. 50. p. 220 dieser Zeitschrift. 580

Fein, S., Studien über Serumanaphylaxie. 576

Feoktistow, A., Eine neue Methode zur Gewinnung von Reinkulturen aus ganzen Organen und Gewebsteilen. 685

Fermi, Claudio, Wieder über die besondere Virulenz meines fixen Virus. 520

Ferrara, Vincenzo, s. **Carapelle, Eduardo.**

Fischoeder, F., Beiträge zur Kenntnis des Milzbrandes. 320

Fornet, W. und **Porter, A. E.,** Opsonine und Antiopsonine in ihrer Wirkung auf Tuberkelbacillen. III. Mitteilung. 138

Forster, Ueber die Abtötung der Tuberkelbacillen durch Erhitzung. 417

Friedrichs und **Gardiewski,** Massenerkrankungen an Fleischvergiftung durch Bac. enteritidis Gärtner im Standort Metz (April 1909). 509

Gaertner, Eine neue Katzenseuche. 232

Galli-Valerio, B., Notes de parasitologie et de technique parasitologique. 538

— und **Rochaz de Jongh, J.,** Zur Frage der Eier von Culex cantans. 545

Gardiewski s. **Friedrichs.**

Goldzieher, Max und **Neuber, Eduard,** Untersuchungen über das Rhinosklerom 121

Guth, F., Zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbakterien. 190

Hahn, Martin, Die Bestimmungen und meteorologische Verwertung der Keimzahl in den höheren Luftschichten. Nach vom Luftballon aus angestellten Beobachtungen. 97

Harrison, F. C and **Vanderleck, J.,** Aesculin bile salt media for the isolation of B. coli and B. typhosus. 607

Heim, L., Bemerkungen zu der Abhandlung von Carlo Bezzola in Bd. 50. p. 519: Können die Muskeln als Bildungsstätte der Antikörper betrachtet werden? 432

Heyrovsky, Hans, Durch Bakteriengifte erzeugte „Purpura haemorrhagica“. 501

Kersten, H. E., Ueber einen neuen säure- und alkoholfesten Erdbacillus, nebst kurzen Bemerkungen über die zu seiner Isolierung angewandte Methode. (Antiforminmethode nach Uhlenhuth und Kersten.) 494

Koidzumi, M., On a new parasitic Amoeba, Entamoeba nipponica, found in the intestine of Japanese. 650

Küster, E., Das Freiburger hämorrhagische Mäusecarcinom. 497

Landsteiner, Karl, Zu der Mitteilung von C. Bezzola: „Ueber die bakteriolytischen Eigenschaften des Paratyphus-B-Immunserums. 432

Leon, N., Le Simulium columbaczense de Roumanie. 659

Levy, E., Ueber die Erzeugung von tuberkulösen Lungenkavernen im Tierexperiment und deren Bedeutung. 476

v. Liebermann jun., L., Ueber die Reduktion des Oxyhämoglobins und einiger anderer Stoffe durch Bakterien. 440

Lier, Wilhelm, Ein Beitrag zum Nachweis des Tuberkelbacillus im Gewebe. 678

Mc. Intosh, James, On the presence of the Spirochaete pallida (Treponema pallidum) in the ova of a congenital syphilitic child. 11

Mereshkowsky, S. S., Untersuchung einer achtjährigen Bouillonkultur des Zieseltyphusbacillus (B. typhi spermophilorum). 1

— und **Sarin, E.,** Ueber das Ratin II. 6

Mießner, Die Verwendung der Präzipitation in Form der Schichtungsmethode zur Diagnostik der Rotzkrankheit. 185

Moriya, Gozo, Ueber die Umwandlungshypothese und Lebensdauer des Tuberkelbacillus. 480

Neuber, Eduard s. **Goldzieher, Max.**

Neufeld, F., Zur Frage der Identität von Tropinen und Lysinen. Bemerkungen zu den Arbeiten von Bezzola im Centralbl. f. Bakteriol. Orig. Bd. 50. Heft 5. 572

Nunokawa, K., Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. VI. Ueber die Phagocytoseresistenz animalisierter Milzbrandbacillen. 668

Pinzani, Gino, Ueber das Vorkommen der Lentzschen Passagewutkörperchen und ihre Spezifizität. 522

Pollak, Richard, Ueber einen Fall von Actinomycespyämie mit retrograder Embolie. 529

Porter, A. E. s. **Fornet, W.**

Reichert, Karl, Ueber die Sichtbarmachung der Geißeln und die Geißelbewegung der Bakterien. 14

Repetto, R., Vergleichende Untersuchungen zwischen dem gegen Lyssa immunisierenden Vermögen der normalen Nervensubstanz und des Pasteurschen Vaccins bei Muriden. 581

Rochaz de Jongh, J. s. **Galli-Valerio, B.**

Ruata, Viktor, Ueber einen Kokkobacillus der menschlichen Bindehaut. Ein Beitrag zur Kenntnis der gramnegativen Diplokokken. 630

Sabella, P., Experimentelle Untersuchungen über das Molluscum contagiosum des Menschen. 645

Sarin, E. s. **Mereshkowsky, S. S.**

Schöbl, Otto, Untersuchungen über die passive Immunität bei Hühnercholera. 285

Selter, Ueber Indolbildung durch Bakterien. 465

Siebert, C., Zur Biologie der Tuberkelbacillen. 305

Siegel, J., Ein neuer parasitärer Hyphomycet des Menschen. 515

Stein, Julius, Zur Frage des Magenmilzbrandes. 625

Stephan, Siegfried, Ueber eine besonders für Schnittfärbungen brauchbare Modifikation der Gramschen Färbungsmethode. 94

Stokes, Wm. Royal and Stoner, Harry W., Dextrose vs. lactose for detecting the colon bacillus. 459

Stones, Harry W., s. **Stokes, Wm. Royal.**

Strubell, Ueber die Einwirkung der Pyocyanase auf das Diphtherietoxin. 426

Toyosumi, H., Ueber die komplementbindenden Stoffe luetischer Sera. 601

—, Veränderungen von Bakterien im Tierkörper. V. Ueber die Widerstandsfähigkeit tierischer Milzbrandbacillen. 275

Vanderleck, J. s. **Harrison, F. C.**

Volpino, Guido, Weitere Beobachtungen über Vaccinevirus. 3. Note. 518

Walter, E., Ueber die desinfektorische Wirkung der Zahncreme Kolynos. 434

Weil, E., Bemerkungen zur Arbeit Petterssons: „Ueber die Wirkung der Leukocyten bei intraperitonealer Cholerainfektion.“ 574

Xylander, Die Komplementbindungsreaktion bei Syphilis, Impfpocken und anderen Infektionskrankheiten. 290

Zlatogoroff, S. J., Die Reaktion der Komplementbindung (Bordet-Gengou) bei Ileotyphus. 587

II. Sachverzeichnis.

Absorption und Opsonine. 146
Actinomyces s. a. Aktinomykose.
— Affanassiew, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— hominis (Berestnew), Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
Actinomyces-Pyämie mit retrograder Embolie. 529
Aesculin-Galle-Salz-Nährboden zur Isolierung von B. coli und B. typhi. 607
Affe, Wirt von Haemaphysalis parmata. 539
—, Wirt von Porocephalus. 539
Agglutination durch normal. Rinderserum. 170
— bei Pest. 674
Aktinomykose s. a. Actinomyces.
—, Pyämie, durch Actinomyces verursacht. 529
Alizarinagar zum Nachweise von Coli-, Typhus- und Paratyphusbakterien. 190
Amblyomma cyprium, Verbreitung, geographische. 539
— dissimile, Verbreitung, geographische. 539
— fossum, Verbreitung, geographische. 539
— haebreum splendidum Gieb., Verbreitung, geographische. 539
— integrum, Verbreitung, geographische. 539
— maculatum Koch, Verbreitung, geographische. 539
— striatum Koch, Verbreitung, geographische. 539
— variegatum Fabr., Verbreitung, geographische. 539
Ambozeptor, Identität mit Opsonin. 149
Anaëroben, Kultur nach Tarozzi. 681
Anaphylaxie s. Ueberempfindlichkeit.
Angiostomum nigrorenosum Oud., Verbreitung, geographische. 540
Antiformin zur Isolierung säurefester Bakterien. 494
Antikörper, Bildung in den Muskeln. 432
Antiopsonine s. Opsonine, Anti-.
Aponomma Gervaisi Lucas, Verbreitung, geographische. 539
Aspergillus fumigatus, Vorkommen im Auswurfe. 541
Auge, Bindehaut, Vorkommen des Coccobac. conjunctivae. 630
—, Conjunctivitis, Rolle des Coccobac. conjunctivae. 631. 638
—, Hornhaut, Vaccine-Körperchen. 518
—, Molluscum-Impfungen. 645
Augenkrankheiten, Rolle des Coccobac. conjunctivae. 638
Auswurf, Tuberkelbacillenfärbung. 456
—, Vorkommen von Aspergillus fumigatus. 541
Bacillus anthracis s. a. Milzbrand.
— —, Abschwächung durch Fette. 568. 570
Bacillus anthracis, Fetteinschlüsse. 116
— —, Formveränderungen in Serumkulturen. 275. 346
— —, Granula. 116
— —, Kapselbildung. 276. 342
— —, Kultur. 683
— —, Morphologie. 342
— —, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— —, Sporenbildung und -keimung. 328
— —, tierischer, Phagocytoseresistenz. 279. 668
— —, tierischer, Widerstandsfähigkeit. 275. 342. 396. 668
— —, Veränderungen im Tierkörper. 275. 342, 396. 668
— —, Verhalten im Tierkörper. 396
— —, Wirkung des Formaldehyds. 179
— —, Wirkung der Leukocyten. 281. 391. 668
— —, Wirkung des Serums. 275. 360
— —, Wirkung der Unterhautflüssigkeit. 390
— bipolaris septicus, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— botulinus, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
—, Bradsot-, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
—, Büffelseuche-, Abschwächung durch Fette. 569. 570
— bulgaricus, Fetteinschlüsse. 116
— —, Granula. 116
— capsulatus gliricida, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— coli s. a. Bacterium coli.
— —, Differentialdiagnose von Bac. typhi. 190
— —, Isolierung mittels Aesculin-Galle-Nährbodens. 607
— —, Nachweis. 190. 459. 607
— —, Nachweis mittels Dextrose, Laktose und Saccharose. 459
— —, Wachstum auf Aesculin-Medien. 620
— — communis, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— cyanogenes, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— — s. Pseudomonas syncyanea.
— diphtheriae s. a. Diphtherie.
— —, Agglutination durch Rinderserum. 170
— —, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— —, Toxin, Infektionserleichterung durch dasselbe. 226
— —, Toxin, Wirkung der Pyocyanase. 426
— —, Wirkung des Formaldehyds. 179
— —, Wirkung von Salzen auf seine Form. 560
— —, Wirkung der Zahncreme Kolynos. 435
— dysenteriae, Indolbildung. 473

Bacillus dysenteriae, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— —, Wachstum auf Aesculin-Medien. 620
— enteritidis Gärtner, Geißeln. 17
— — —, Ursache einer Fleischvergiftung. 509
—, Erd-, säure- und alkoholfester, neuer. 494
— faecalis alcaligenes, Wachstum auf Aesculin-Medien. 620
— fluorescens liquefaciens, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
—, Hog cholera-, Wachstum auf Aesculin-Medien. 620
— leprae, Wirkung der Enzyme. 289
— mallei, Präzipitation zur Rotzdiagnose (Schichtungsmethode). 185
— murisepticus, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— mycoides, Geißeln. 17
— nitri n. sp., Entwickelungszyklus. 193
— — —, kulturelle Eigenschaften. 194
— — —, Morphologie. 193
— — —, Sporoidkörper. 209
— — —, Sporulation. 199
— oedematis maligni, Kultur. 683
— paratyphi s. a. Paratyphus.
— — B, Geißeln. 17
— —, Indolbildung. 473
— —, Nachweis. 190
— —, Wachstum auf Aesculin-Medien. 620
— pneumoniae Friedl., Differenzierung mittels Komplementbindung. 134
— polymorphus, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— prodigiosus, Geißeln. 17
— —, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— —, Wirkung des Formaldehyds. 179
— proteus vulgaris, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— pseudodysenteriae, Indolbildung. 467
— pyocyaneus, Indolbildung. 473
— —, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— rhinoscleromatis, Differenzierung mittels Komplementbindung. 134
— spermophilinus s. Bacillus typhi spermophilorum.
— subtilis, Fetteinschlüsse. 116
— —, subtilis, Geißeln. 17
— —, Granula. 116
— —, Wirkung des Formaldehyds. 179
— —, Wirkung von Salzen. 549
— tetani, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— tuberculosis s. a. Tuberkulose.
— —, Agglutination durch Rinderserum. 170
— —, Biologie. 305
— —, Färbung im Auswurfe, Zahl der dargestellten Bacillen. 456
— — des Geflügels, Rolle bei der Darmpseudotuberkulose der Rinder. 455
— —, Glyzerinverzehrung. 313
Bacillus tuberculosis, granuläre Form, nach Ziehl nicht färbbar. 678
— —, Lebensdauer. 486
— — menschlicher Herkunft, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— — menschlicher Herkunft, Unterscheidung von Rindertuberkelbacillen. 318
— —, Mutation. 480
— —, Nachweis im Gewebe. 678
— — der Rinder, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— — der Rinder, Unterscheidung von menschlichen Tuberkelbacillen. 318
— —, Tötung durch Erhitzung in der Milch. 417
— —, Toxinbildung. 318
— —, Umwandlungshypothese. 480
— —, Wirkung der Antiopsonine. 156
— —, Wirkung der Erhitzung. 417
— —, Wirkung des Formaldehyds. 181
— —, Wirkung von Glyzerin auf das Wachstum. 311
— —, Wirkung der Opsonine. 138
— —, Wirkung der Temperatur. 417. 486
— tumescens, Fetteinschlüsse. 116
— —, Granula. 116
— typhi s. a. Typhus abdominalis.
— —, Differentialdiagnose von Bac. coli. 190
— —, Geißeln. 17. 80
— —, Indolbildung. 473
— —, Isolierung mittels Aesculin-Galle-Nährbodens. 607
— —, Nachweis. 190. 607
— —, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— —, Wachstum auf Aesculin-Medien. 620
— —, Wirkung des Formaldehyds. 179
— —, Wirkung der Zahncreme Kolynos. 435
— — spermophilorum, Lebensfähigkeit einer 8-jährigen Bouillonkultur. 2
— — —, Virulenz einer 8-jährigen Bouillonkultur. 4
Bacterium coli s. a. Bacillus coli.
— —, Geißeln. 17
— —, Wirkung der Zahncreme Kolynos. 435
— — commune, Indolbildung. 467
— — —, Wirkung des Formaldehyds. 179
— paracoli, Indolbildung. 467
— pneumoniae felis n. sp., Erreger einer Katzenseuche. 232
— — — n. sp., morphologische und kulturelle Eigenschaften. 241
— — — n. sp., Pathogenität. 243
— scleromatis, Differenzierung mittels Komplementbindung. 134
Bakterien, Abschwächung durch Fette. 564
—, anaërobe, Kultur nach Tarozzi. 681
—, anaërobe, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
—, Bewegung, Geißel-. 45
—, Färbung. 37. 94. 115. 456
—, Färbung nach Gram, Modifikation. 94
—, Fetteinschlüsse. 115
—, Gasbildung. 459

Bakterien, Geißelbewegung. 45
—, Geißeln, Färbung. 37
—, Geißeln, Sichtbarmachung. 14
—, Geißeln, Zopfbildung derselben. 23
—, Granula. 115
—, Indolbildung. 465
—, Kapsel-, Differenzierung mittels Komplementbindung. 134
—, Kapsel-, Untersuchung. 125
—, Kern. 213
—, Kultur. 681. 685
—, Kultur, Rein-, Gewinnung aus Geweben und Organen. 685
—, Mutation. 480
—, pathogene, Umwandlung im Impfstoffe mittels Fette. 564
—, Plasmolyse. 21
—, Reduktion von Methylenblau. 443
—, Reduktion des Oxyhämoglobins. 440
—, Reduktion von Selenverbindungen. 443
—, Reduktion von Tellurverbindungen. 443
—, Reduktionswirkung. 443
—, säurefeste, Isolierung mittels Antiformins. 494
—, Sporoidkörper. 118. 209
Bakterien-Toxine, Ursache einer Purpura haemorrhag. 501
Bakterien, Veränderungen im Tierkörper. 275. 342. 396. 668.
—, Vorkommen in der Luft. 97
—, Vorkommen im Wasser. 459
—, Wirkung des Formaldehyds. 178
—, Wirkung von Salzen auf ihre Entwickelung. 549
—, Wirkung von Salzen auf ihre Form. 553
—, Wirkung der Temperatur. 417. 486
—, Wirkung der Zahncreme Kolynos. 434
—, Zytologie. 193
Bakteriolyse durch Paratyphus-B-Immunserum. 432
Bakteriolysine, Identität mit Opsoninen. 142
Bakteriotropine s. a. Opsonine.
Baryumchlorid, Wirkung auf Bakterien. 550
Beizen der Geißeln der Bakterien. 37
Bewegung, Geißel- der Bakterien. 45
Blutparasit des Huhnes. 542
Blutparasiten der Vögel. 542. 654
Bradsotbacillus s. Bacillus, Bradsot-.
Büffelseuchebacillus, Abschwächung durch Fette. 569. 570
Büffelseuche, Immunisierung. 569
Bufo vulgaris, Wirt von Opalina ranarum. 541
— —, Wirt von Oxysoma brevicaudatum. 540
Caenurus serialis P. Gervais, Verbreitung, geographische. 541
Calciumchlorid, Wirkung auf Bakterien. 550
Canis aureus, Wirt von Haemaphysalis Neumanni. 539
Chironomidae, pathogene Rolle. 538
Chlamydozoen, Rolle bei der Wut. 448
Cholera s. a. Vibrio cholerae.
—, Hühner- s. Hühnercholera.
Cholerainfektion, intraperitoneale, Wirkung der Leukocyten. 574
Coccobacillus conjunctivae n. sp., Differentialdiagnose von Meningococcus, M. catarrhalis und M. gonococcus. 639
— — —, kultur. Eigenschaften. 634
— — —, Morphologie. 631
— — —, Pathogenität. 636
— — —, Rolle bei Augenkrankheiten. 638
— — —, Vorkommen auf der Conjunctiva. 630
Conjunctiva, Vorkommen des Coccobacillus conjunctivae. 630
Conjunctivitis, Rolle des Coccobacillus conjunctivae. 631. 638
Ctenotaenia pectinata Goeze, Verbreitung, geographische. 540
Culex cantans, Eier. 545
Culicoides pulicaris Linn., Verbreitung, geographische. 538
Cutireaktion bei Pest. 674
Cyclopodia Sykesii Westw., Verbreitung geographische. 539
Darmpseudotuberkulose der Rinder, Diagnose mittels Tuberkulins. 450
— —, Rolle der Geflügeltuberkulosebacillen. 455
Darm, Vorkommen von Entamoeba nipponica in demselben. 650
Davainea urogalli Modeer., Verbreitung, geographische. 540
Desinfektion der Wohnung mit Formaldehyd. 178
— durch Zahncreme Kolynos. 434
Dextrose zum Nachweis von Bac. coli. 459
—, Vergärung durch Bac. coli. 459
Dialyse und Antiopsonine. 160
— und Opsonine. 147
Diphtherie s. a. Bac. diphtheriae.
—, Nervenzellenveränderungen. 527
Diphtherievergiftung, Infektionserleichterung durch dieselbe. 226
Diplococcus pneumoniae, Toxin, Ursache einer Purpura haemorrhagica. 503
Diplokokken, gramnegative, Untersuchungen. 630
Dipylidium caninum L., Verbreitung, geographische. 540
Dochmius bidens Molin., Verbreitung, geographische. 540
Dysenterie s. a. Bac. dysenteriae.
Echinorhynchus spirula Olfers, Verbreitung, geographische. 540
Ei, Vorkommen von Spirochaete pallida bei einem kongenitalsyphilitischen Kinde. 11
Eier von Culex cantans. 545
Entamoeba nipponica n. sp., Morphologie, Entwickelung. 650
— — n. sp., Vorkommen im Darme. 650
Enzyme, Wirkung auf Bac. leprae. 289
—, Wirkung auf Lepragewebe. 289
Erdbacillus s. Bacillus, Erd-.
Erhitzung, Tötung des Bac. tubercul. 417

Erythema bullosum multiforme, Komplementbindung (Wassermann). 300
Essigsäure, Wirkung des Wutvirus. 584
Färbung des Bac. tubercul. im Auswurfe. 456
— der Bakterien. 37. 94. 115. 456
—, Gram- der Bakterienmodifikation. 94
Fermente, Wirkung auf Bac. leprae. 289
Fette zur Impfstoffherstellung aus pathog. Bakterien. 564
—, Virulenzabschwächung durch dieselben. 564
Fetteinschlüsse bei Bakterien. 115
Fettsäuren zur Impfstoffherstellung aus pathogenen Bakterien. 570
—, Virulenzabschwächung durch dieselben. 570
Filaria incrassata Molin., Verbreitung, geographische. 540
— longecirrata v. Linst., Verbreitung, geographische. 540
Flagellaten, Geißelbewegung. 46
Fleischvergiftung, durch Bac. enteritidis Gärtner verursacht. 509
Foetus, Syphilis. 250
Formaldehyd zur Desinfektion der Wohnungen. 178
—, Wirkung auf Bakterien. 178
Fuchs, Wirt von Hyalomma aegyptium. 539
Galeopithecus, Wirt von Filaria longecirrata. 540
—, Wirt von Oxyuris coronata. 540
Galle-Aesculin-Nährboden zur Isolierung von Bac. coli und Bac. typhi. 607
Gas, Bildung durch Bakterien. 459
Geflügeltuberkulin zur Diagnose der Darmpseudotuberkulose der Rinder. 450
Geißelbewegung der Bakterien. 45
— der Flagellaten. 46
Geißeln der Bakterien, Färbung. 37
— —, Sichtbarmachung. 14
— —, Zopfbildung. 23
— der Sarcinen. 18. 88
— der Spirillen. 65
— der Spirochäten. 18. 89
— der Vibrionen. 18. 77
Gewebe, Nachweis von Tuberkelbacillen 678
—, Reinkulturgewinnung aus demselben. 685
Glyzerin, Wirkung auf Bac. tubercul. (Wachstum). 311
Gonorrhöe s. a. Micrococcus gonococcus.
Granula bei Bakterien. 115
Haemadipsa ceylanica Moq. Tend., Verbreitung, geographische. 539
— silvestris R. Bl., Verbreitung, geographische. 539
Haemaphysalis Leachi Aud., Verbreitung, geographische. 539
— Neumanni Dönitz, Verbreitung, geographische. 539
— parmata, Verbreitung, geographische. 539
— parva, Verbreitung, geographische. 539
Haematopinus spinulosus Burm., Uebertragung von Spirochaete obermeieri. 544
— stenopsis Burm., Verbreitung, geographische. 538
Hämoglobin, Oxy-, Reduktion durch Bakterien. 440
Haemogregarina, Vorkommen im Blute des Hahnes. 542
Hämolysine und Zytotropine, Verschiedenheit. 572
Haemoproteus oryzivorae n. sp., Blutparasit von Spermestes (Orizornis) oryzivora. 654
— — n. sp., Entwickelung. 654
Hämorrhagieen, durch Bakteriengifte verursacht. 501
Hapale midas, Wirt von Heterakis distans. 540
Harn, Vorkommen von Pycnosporium Lommeni n. sp. 515
Hase, Wirt von Strongylus commutatus. 542
Heterakis distans Rud., Verbreitung, geographische. 540
— perspicillum Rud., Verbreitung, geographische. 540
Hornhaut, Vaccinekörperchen. 518
Hühnercholera, Immunisierung. 285
Hühner, Wirte von Haemogregarina. 542
—, Wirte von Heterakis perspicillum. 540
Hund, Wirt von Amblyommaarten. 539
—, Wirt von Dipylidium caninum. 540
—, Wirt von Hyalomma aegyptium. 539
Hyalomma aegyptium L., Verbreitung, geographische. 539
Hymenolepis diminuta Rud., Verbreitung, geographische. 540
Hyphomyzet, parasit., des Menschen. 515
Immunisierung gegen Büffelseuche. 569
— gegen Hühnercholera. 285
— gegen Milzbrand. 568
— gegen Tuberkulose. 479. 480
— gegen Wut. 581
Immunität und Antiopsonine. 166
— und Opsonine. 166
—, Ueberempfindlichkeitsuntersuchungen. 579
Immunopsonine s. Opsonine, Immun-.
Immunserum, Paratyphus-B, bakteriolytische Eigenschaften. 432
Impetigo contagiosa, Komplementbindung (Wassermann). 300
Impfpocken, Komplementbindung (Wassermann). 302
Impfstoffe, Herstellung aus pathogenen Bakterien mittels Fette. 564
Index, opsonischer, Bestimmung. 138
—, — bei Tuberkulose. 138
Indol, Bildung durch Bac. dysenteriae. 473
—, Bildung durch Bac. paratyphi. 473
—, Bildung durch Bac. pseudodysenteriae. 467
—, Bildung durch Bac. pyocyaneus. 473
—, Bildung durch Bac. typhi. 473
—, Bildung durch Bact. coli comm. 467
—, Bildung durch Bact. paracoli. 467

Indol, Bildung durch Bakterien. 465
Infektion, Erleichterung durch Diphtherievergiftung. 226
Johnes disease der Rinder, Diagnose mittels Geflügeltuberkulins. 450
Ixodes eudyptidis Maskell, Verbreitung, geographische. 539
— pilotus Koch, Verbreitung, geographische. 539
— ricinus, Biologie. 543
— —, Krankheitsübertragung. 544
Kaliumchlorid, Wirkung auf Bakterien. 550
Kaliumsulfat, Wirkung auf Bakterien. 550
Kaltblüter, Umwandlung menschl. Tuberkelbacillen in denselben. 481
Kaninchen, Wirt von Caenurus serialis. 541
Kapselbakterien s. Bakterien, Kapsel-.
Kapsel, Bildung bei Bac. anthracis. 276. 342
Karbolsäure, Wirkung auf Wutvirus. 586
Karzinom, Mäuse-, Freiburger hämorrhag., Untersuchung, Uebertragung. 497
Katzen, Pleuropneumonie, durch Bact. pneum. felis verursacht. 232
—, —, durch Bact. pneum. felis verursacht. 232
—-Seuche, durch Bact. pneum. felis verursacht. 232
—, Wirte von Taenia crassicollis. 541
Kavernen, Lungen-, tuberkulöse, Erzeugung im Tierexperiment. 476
Kern der Bakterien. 213
Kolynos, Zahncreme, desinfektorische Wirkung. 434
Komplement bindende Stoffe im Serum Syphilitischer. 601
Komplement, Identität mit Opsonin. 142
Komplementbindung zur Differenzierung der Kapselbakterien. 134
— (Wassermann) bei Erythema bullosum multiforme. 300
— — bei Impetigo contagiosa. 300
— — bei Impfpocken. 302
— — bei Malaria. 300
— — bei Meningitis. 300
— — bei Paratyphus. 300
— bei Pest. 674
— (Wassermann) bei Psoriasis. 300
— — bei Scharlach. 300
— — bei Sepsis. 300
— bei Syphilis. 601
— (Wassermann) zur Syphilisdiagnose, Wesen. 266
— — bei Typhus. 300
— zur Typhusdiagnose. 587
— bei Variola vera. 136
Kondensor, Spiegel-, zur Sichtbarmachung der Geißeln. 15
Konservierung von Parasiten, Methode. 544
Kultur, Rein-, Gewinnung aus Geweben und Organen. 685
Laktose zum Nachweis von Bac. coli. 459
—, Vergärung durch Bac. coli. 459
Lepragewebe, Wirkung von Enzymen. 289
Leptodactylus ocellatus, Wirt von Angiostomum nigrorenosum. 540
— ocellatus, Wirt von Pleorchis cygnoides. 540
Lepus variabilis, Wirt von Ctenotaenia pectinata. 540
Leukozyten, Wirkung auf Bac. anthracis 281. 391. 668
—, Wirkung bei intraperitonealer Cholerainfektion. 574
Ligula reptans Dies., Verbreitung, geographische. 540
Lithiumchlorid, Wirkung auf Bakterien. 550
Luft, Bakteriengehalt, Bestimmung in höheren Schichten. 97
— —, meteorologische Verwertung. 97
—, Staubgehalt, Beziehung zum Bakteriengehalt. 108
—, Vorkommen von Bakterien. 97
Lungenkavernen, tuberkulöse, Erzeugung im Tierexperiment. 476
Lupus, Tuberkelbacillennachweis. 678
Lysine, Identität mit Tropinen. 572
Lyssa s. Wut.
Mäusecarcinom, Freiburger hämorrhag., Untersuchung, Uebertragung. 497
Magen, Milzbrand (beim Menschen). 625
Malaria, Komplementbindung (Wassermann). 300
Malleinum siccum, Präzipitation zur Rotzdiagnose (Schichtungsmethode). 185
Manganchlorid, Wirkung auf Bakterien. 550
Mangansulfat, Wirkung auf Bakterien. 550
Margaropus annulatus Say., Verbreitung, geographische. 539
Meerzwiebel s. Scilla maritima.
Meningitis, Komplementbindung (Wassermann). 300
Meningococcus, Differentialdiagnose von Coccobac. conjunct. 640
Mensch, Parasiten. 538
Methylenblau, Reduktion durch Bakterien. 443
—, Wirkung auf Wutvirus. 584
Micrococcus catarrhalis, Differentialdiagnose von Coccobac. conjunctivae. 640
— cinnabaricus, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— gonococcus, Differentialdiagnose von Coccobac. conjunctivae. 639
— prodigiosus, Wirkung d. Formaldehyds. 179
Milch, Tötung des Bac. tubercul. durch Erhitzung in derselben. 417
Milzbrand s. a. Bac. anthracis.
—, Immunisierung. 568
— des Magens beim Menschen. 625
—, Untersuchungen. 320
Molluscum contagiosum des Menschen, Untersuchungen. 645
Molluscumkörper, Wesen. 645
Muriden, Wut. 520
—, —, Immunisierung. 581

Mus decumanus, Wirt von Hymenolepis diminuta. 540
— rattus, Wirt von Hymenolepis diminuta. 540
Muskeln als Antikörperbildungsstätte. 432
Mutation bei Bakterien. 480
Myiophteria reduvioides Rond., Verbreitung, geographische. 539
Nährböden zum Nachweis von Coli-, Typhus- und Paratyphusbakterien. 190
Nasua socialis, Wirt von Dochmius bidens. 540
— —, Wirt von Echinorhynchus spirula. 540
— —, Wirt von Filaria incrassata. 540
— — Wirt von Ligula reptans. 540
Nervensubstanz zur Immunisierung gegen Wut. 581
Nervenzellen, Veränderung bei Diphtherie. 527
—, Veränderung bei Wut. 522
Nitrobacterium Winogradsky, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
Oele zur Impfstoffherstellung aus pathog. Bakterien. 564
—, Virulenzabschwächung durch dieselben. 564
Opalina ranarum Purk. et Val., Verbreitung, geographische. 541
Opsonine und Absorption. 146
—, Anti- und Dialyse. 160
—, —, Immun- und Normalantiopsonine. 162
—, — und Immunopsonine. 162
—, — und Immunität. 166
—, —, Untersuchungen. 156
—, —, Ursprung. 164
—, —, Wirkung auf Bac. tubercul. 156
—, Bau. 138
— und Dialyse. 147
—, Identität mit Ambozeptoren. 149
—, — mit Bakteriolysinen. 142
—, — mit Komplementen. 142
—, Immun-, Beziehung zu Normalopsoninen. 154
—, —, Untersuchungen. 153
— und Immunität. 166
—, Index, Bestimmung. 138
—, — bei Tuberkulose. 138
—, Normal-, Beziehung zu den Immunopsoninen. 154
—, Untersuchungen. 138
—, Ursprung. 145
—, Wesen. 155
—, Wirkung auf Bac. tubercul. 138
Ophthalmoreaktion bei Pest. 674
Organe, Reinkulturgewinnung aus denselben. 685
Orizornis oryzivora s. Spermestes oryzivora.
Oxyhämoglobin, Reduktion durch Bakterien. 440
Oxysoma brevicaudatum Zed., Verbreitung, geographische. 540
Oxyuris coronata v. Linst., Verbreitung, geographische. 440
Pankreatin, Wirkung auf Bac. leprae und Lepragewebe. 289
Parasiten, Blut-, der Vögel. 542. 654
—, geographische Verbreitung. 538
—, Konservierungsmethode. 544
— des Menschen. 538
Paratyphus s. a. Bac. paratyphi.
—, Komplementbindung (Wassermann). 300
Paratyphus-B-Immunserum, bakteriolyt. Eigenschaften. 432
Penicillium, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
Pepsin, Wirkung auf Bac. leprae und Lepragewebe. 289
Perdrix, Wirt von Davainea urogalli. 540
Pest, Agglutinationsreaktion. 674
—, Cutireaktion. 674
—, Komplementbindung. 674
—, Ophthalmoreaktion. 674
Phagocytose s. a. Opsine.
Phagocytoseresistenz tierischer Bac. anthracis. 279. 668
Placenta, Durchgängigkeit für Spiroch. pallida. 255
Plasmolyse bei Bakterien. 21
Pleorchis cygnoïdes Zeder, Verbreitung, geographische. 540
Pleuropneumonie der Katze, durch Bact. pneumoniae felis veruos. 232
Pneumococcus, Wirkung der Zahncreme Kolynos. 437
Pneumonie der Katze, durch Bact. pneumoniae felis verursacht. 232
Pocken, Impf-, Komplementbindung (Wassermann). 302
Porocephalus, Verbreitung, geographische. 539
Präzipitation zur Rotzdiagnose (Schichtungsmethode). 185
Proteus vulgaris, Geißeln. 17. 82
Pseudomonas syncyanea, Geißeln. 18. 78
Pseudotuberkulose des Darmes der Rinder, Diagnose mittels Geflügeltuberkulins. 450
Psoriasis, Komplementbindung (Wassermann). 300
Purpura haemorrhagica, durch Bakterientoxine verursacht. 501
Pyämie, Actinomyces-, mit retrograder Embolie. 529
Pycnosporium Lommeni n. sp., morphol. und kultur. Eigenschaften. 517
— — —, Vorkommen im Harne. 515
Pyocyanase, Untersuchungen. 580
—, Wirkung auf Diphtherietoxin. 426
—, Wirkung auf Tiere. 429
Ratin II zur Bekämpfung der Ratten. 6
—, Bestandteile. 6
Ratten, Bekämpfung mit Ratin II. 6
—, Wirkung der Scilla maritima. 10
—, Wirte von Hymenolepis diminuta. 540
—, Wut, Immunisierung. 581
Reduktion durch Bakterien. 443
— von Methylenblau durch Bakterien. 443
— von Oxyhämoglobin durch Bakterien. 440
— von Selenverbindungen durch Bakterien. 443

Reduktion von Tellurverbindungen durch Bakterien. 443
Reinkultur s. Kultur, Rein-.
Reisvogel s. Spermestes oryzivora.
Rhinosklerom, Histologie. 121
—, Untersuchungen. 121
Rhipicephalus cuneatus Nn., Verbreitung, geographische. 539
— simus Koch, Verbreitung, geographische, 539
Rinder, Pseudotuberkulose des Darmes, Diagnose mittels Geflügeltuberkulins. 450
—, Wirte von Amblyomma haebreum splendidum. 539
—, Wirte von Margaropus annulatus. 539
—, Wirte von Rhipicephalus cuneatus. 539
Rotz, Diagnose mittels Präzipitation (Schichtungsmethode). 185
Saccharomyces cerevisiae, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
Saccharose zum Nachweise des Bac. coli. 463
Salze, Wirkung auf Bakterien. 546
Salzsäure, Wirkung auf Wutvirus. 584
Sarcina haeckeli, Geißeln. 18. 88
— mobilis schaudinni, Geißeln. 18. 88
Sarcopsylla penetrans L., Verbreitung, geographische. 538
Scharlach, Komplementbindung (Wassermann). 300
Schildkröte, Umwandlung menschlicher Tuberkelbacillen in derselben. 481
Schmalz, Schweine- zur Impfstoffherstellung aus pathogenen Bakterien. 564
—, Schweine-, Virulenzabschwächung durch dasselbe. 564
Schnittfärbung nach Gram. 94
Schwangerschaft, syphilitische Infektion in derselben. 250
Schweineschmalz s. Schmalz, Schweine-.
Scilla maritima, Giftigkeit für Ratten. 10
Selenverbindungen, Reduktion durch Bakterien. 443
Sepsis, Komplementbindung (Wassermann) 300
Serum, normales Rinder-, Agglutinationswirkung. 170
—, Paratyphus-B-Immun-, bakteriolytische Eigenschaften. 432
—, Präzipitation zur Rotzdiagnose. 185
—, Rinder-, Agglutinationswirkung. 170
— Syphilitischer, komplementbindende Stoffe in demselben. 601
—, Ueberempfindlichkeit. 576
—, Wirkung auf Bac. anthracis. 275. 360
Serumbehandlung der Hühnercholera. 285
Serumdiagnose der Syphilis. 266. 290
— der Syphilis, Wesen. 266
— des Typhus. 587
Seuche, Büffel- s. Büffelseuche.
Simulium columbaczense, Anatomie. 662
— —, Schädlichkeit. 659
Spermestes oryzivora, Wirt von Haemoproteus oryzivorae n. sp. 654
Spiegelkondensor zur Sichtbarmachung der Geißeln. 15
Spirillen, Geißeln. 65
—, Teilung. 64
Spirillum concentricum, Geißeln. 18
— rubrum, Geißeln. 18
— volutans, Geißeln. 16. 65
— —, Geißeln, Zopfbildung derselben. 23
— —, Morphologie. 65. 69
— —, Plasmolyse. 21
Spirochaete gallinarum, Geißeln. 18. 89
— obermeyeri, Geißeln. 89
— —, Uebertragung durch Haematopinus spinulosus. 544
— pallida, Durchgängigkeit der Placenta für dieselbe. 255
— —, Syphilis, Erreger derselben. 271. 292
— —, Vorkommen im Ei eines kongenital syphilitischen Kindes. 11
Spirochäten, Geißeln. 18. 89
Sporenbildung bei Bac. anthracis. 328
Sporoidkörper der Bakterien. 118. 209
Sputum s. Auswurf.
Staphylococcus pyogenes aureus, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— — —, Wirkung des Formaldehyds. 179
— — —, Wirkung der Zahncreme Kolynos. 435
Staubgehalt der Luft, Beziehung zum Keimgehalt. 108
Stegomyia fasciata Fabr., Verbreitung, geographische. 538
Streptococcus acidi lactici, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
— mucosus, Toxin, Ursache einer Purpura haemorrhagica. 503
— pyogenes, Reduktion des Oxyhämoglobins. 441
Strongylus commutatus Dies., Vorkommen beim Hasen. 542
Syphilis, Diagnose mittels Komplementbindung (Wassermann). 266. 290
—, komplementbindende Stoffe im Serum. 601
—, Komplementbindung. 266. 290. 601
—, — (Wassermann). 266. 290
—, — —, Spezifizität. 290
—, — —, Wesen. 266
—, — —, Wirkung der Quecksilberbehandlung. 300
—, postkonzeptionelle, Uebertragung auf den Fötus. 250
—, Schwangerschaftsinfektion. 250
—, Serumdiagnose. 266. 290
—, —, Wesen. 266
—, Spirochaete pallida als Erreger. 271. 292
—, — —, Vorkommen im Ei eines kongenital syphilitischen Kindes. 11
—, Vererbung. 251
Taenia crassicollis Rud., Verbreitung, geographische. 541
Tanypus nebulosus Meig., Verbreitung, geographische. 538
Tellurverbindungen, Reduktion durch Bakterien. 443
Temperatur, Wirkung auf Bakterien. 417. 486

Testudo mauritanica, Wirt von Hyalomma aegyptium. 539
Toxin des Bac. tubercul., Bildungen unter verschiedenen Bedingungen. 318
—, Diphtherie-, Infektionserleichterung durch dasselbe. 226
—, —, Wirkung der Pyocyanase. 426
— des Diplococcus pneumoniae, Ursache einer Purpura haemorrhagica. 503
— des Streptococcus mucos., Ursache einer Purpura haemorrhagica. 503
Trachomkörperchen, Untersuchung. 536. 541
Treponema pallidum s. Spirochaete pallida.
Trichotracheliden, Verbreitung, geographische. 540
Tropine, Identität mit Lysinen. 572
Tuberkulin-Bildung, Untersuchungen. 318
Tuberkulin, Geflügel-, zur Diagnose der Darmpseudotuberkulose der Rinder. 450
Tuberkulose s. a. Bac. tuberculosis.
—, Diagnose mittels Tuberkulins. 450
—, Immunisierung. 479. 480
—, Lungenkavernenerzeugung, experimentelle. 476
—, opsonischer Index. 138
—, Pseudo- s. Pseudotuberkulose.
Typhus abdominalis s. a. Bac. typhi.
— —, Komplementbindung. 300. 587
— —, — (Wassermann). 300
Ueberempfindlichkeit gegenüber Serum. 576
Ueberempfindlichkeitsimmunität, Untersuchungen. 579
Vaccinekörperchen, bewegliche. 518
Vaccinevirus, Untersuchungen. 518
Varanus salvator, Wirt von Aponomma Gervaisi. 539
Variola vera, Komplementbindung. 136
— —, serologische Untersuchungen. 136
Vererbung der Syphilis. 250
Vergiftung, Fleisch- s. Fleischvergiftung.
Vibrio cholerae s. a. Cholera.
— —, Geißeln. 18
— —, Wachstum auf Aesculin-Medien. 620
— —, Wirkung des Formaldehyds. 179
— —, Wirkung der Leukocyten. 574
— Dunbar, Geißeln. 18
Vibrio El Tor, Wirkung von Salzen auf Entwickelung und Form. 549. 555
— Elwers, Geißeln. 18
— Finkler, Geißeln. 18
— Metschnikoff, Geißeln. 18
— Nasik, Geißeln. 18
Vibrionen, Geißeln. 18. 77
Virulenz, Abschwächung durch Fette. 564
Virus, filtrierbare, mikroskopisch sichtbare. 448
Vögel, Blutparasiten. 542. 654
Wasser, Nachweis des Bac. coli in demselben. 459
—, Vorkommen von Bakterien. 459
Wohnungen, Desinfektion mit Formaldehyd. 178
Wut, Immunisierung mit normaler Nervensubstanz. 581
—, Immunisierung mit Pasteurs Vaccin. 581
—-Körperchen, Lentzsche Passage-, Spezifizität und Vorkommen. 522
—, Nachweis. 448
— der Muriden, experimentelle Untersuchungen. 520
— der Muriden, Immunisierung. 581
—, Nervenzellenveränderungen. 522
— der Ratten, Immunisierung. 581
—, Rolle der Chlamydozoen. 448
Wutvirus, besondere Virulenz desselben aus dem antirabischen Institut zu Sassari. 520
—, Wirkung von Essigsäure. 584
—, Wirkung der Karbolsäure. 586
—, Wirkung von Methylenblau. 584
—, Wirkung von Salzsäure. 584
Zahncreme Kolynos, desinfektorische Wirkung. 434
Zecken, Biologie. 543
—, Krankheitsübertragung. 544
Ziege, Wirt von Haemotopinus stenopsis. 538
Zieseltyphusbacillus s. Bacillus typhi spermophilorum.
Zopfbildung der Geißeln der Bakterien. 23
Zytologie der Bakterien. 193
Zytotropine und Hämolysine, Verschiedenheit. 572

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Aesculin-Galle-Salz-Nährboden zur Isolierung von B. coli und typhi. 613—615
Bacillus coli, Isolierung mittels Aesculin-Galle-Salz-Nährbodens. 613—615
— —, Nachweis. (Taf.) 191
— diphtheriae, Wirkung von Salzen. 557
— nitri n. sp., Entwickelungszyklus. (Taf. I, II.) 200
— paratyphi, Nachweis. (Taf.) 191
— tuberculosis, Nachweis im Gewebe. 679
— typhi, Isolierung mittels Aesculin-Galle-Salz-Nährbodens. 613—615
Bacillus typhi, Nachweis. 191
Bakterien, Geißelbewegung. 49. 52. 55. 57—59. 61. 63. 64. 66. 80. 84—88
—, Geißeln. 31. 49. 52. 55. 57—59. 61. 63. 64. 67. 73. 80. 84—88
—, —, Darstellung. 29. 80
—, Plasmolyse. 21. 22
Caenurus serialis, Kopf. 541
Carcinom, Mäuse-, hämorrhagisches. 499
Coccobacillus conjunctivae n. sp., aus Geweben und Kulturen. (Taf.). 645
Diphtherie, Nervenzellenveränderungen. 525

Ei, Vorkommen von Spirochaete pallida. 12
Entamoeba nipponica n. sp., Entwickelung. 652. 653
— — —, Morphologie. 651
Flagellaten, Geißelbewegung. 46. 47
Galle-Salz-Aesculin-Nährboden zur Isolierung von B. coli und B. typhi. 613—615
Geißelbewegung der Bakterien. 49. 52. 55. 57—59. 61. 63. 64. 66. 80. 84—88
— der Flagellaten. 46. 47
— der Spirillen. 49. 64. 66
Geißeln der Bakterien. 31. 49. 52. 55. 57—59. 61. 63. 64. 67. 73. 80. 84—88
— der Bakterien, Darstellung. 29. 80
— der Spirillen. 49. 64. 66. 67. 73
Haemogregarina im Blute eines Hahnes. 542
Haemoproteus oryzivorae n. sp., Entwickelung. (Taf. I, II.) 659
Komplementbindung, Schema. 266
Mäusecarcinom, hämorrhagisches. 499
Molluscum contagiosum-Körper. 646. 647
Nährboden zum Nachweise von Coli-, Typhus- und Paratyphusbakterien. (Taf.) 191
Nervenzellen, Veränderungen bei Diphtherie. 525
Nervenzellen, Veränderungen bei Wut. 524
Plasmolyse bei Bakterien. 21. 22
Proteus vulgaris, Geißelbewegung. 84—88
Protozoon im Blute eines Hahnes. 542
Pycnosporium Lommeni n. sp., Agarkultur, Pykniden, Gemmen etc. (Taf. I, II.) 518
Pykniden von Pleospora und Cicinnobolus. 516
— von Pycnosporium Lommeni n. sp. (Taf. II, Fig. 7—9.) 518
Simulium columbaczense, Anatomie. 663. 665. 666
Spirillen, Geißelbewegung. 49. 64. 66
—, Geißeln. 49. 64. 66. 67. 73
Spirillum volutans, Geißeln. 66. 67
— —, Morphologie. 67. 73
— —, Plasmolyse. 21. 22
Spirochaete pallida, Vorkommen im Ei. 12
Syphilis, Spirochaete pallida im Ei. 12
Trachomkörperchen. (Taf.) 537. 541
Vibrio El Tor, Wirkung von Salzen. 556. 557
Wut-Körperchen, Lentzsche Passage-. 524
Wut, Nervenzellenveränderungen. 524

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 3601

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW

AN INITIAL FINE OF 25 CENTS
WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH DAY AND TO $1.00 ON THE SEVENTH DAY OVERDUE.

Book Slip—15m-8,'52(A2573s4)45

102901 QR1
Z. f. bakt. Z4
Abt.1:1

Z.f.

QR1
Z4
Abt.1:1
V.51

102901